

P21770.P05

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

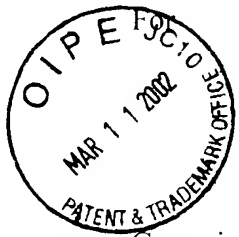
Applicant : Beom Kyu KIM et al.

Serial No. : 10/001,970

Group Art Unit : 1761

Filed : December 5, 2001

Examiner : Not Known



: A METHOD FOR PREPARING LACTIC ACID FERMENTED SOLUTION OF MUSHROOM AND LACTIC ACID FERMENTED SOLUTION OF MUSHROOM PRODUCED THEREBY


**CLAIM OF PRIORITY**

Commissioner of Patents and Trademarks  
Washington, D.C. 20231

Sir:

Applicant hereby claims the right of priority granted pursuant to 35 U.S.C. 119 based upon Korean Application Nos. 2001-0024513, filed May 7, 2001; 2001-0054236, filed September 4, 2001; and 2001-0073033, filed November 22, 2001. As required by 37 C.F.R. 1.55, certified copies of the Korean applications are being submitted herewith.

Respectfully submitted,  
Beom Kyu KIM et al.

  
Bruce H. Bernstein  
Reg. No. 29,027

March 11, 2002  
GREENBLUM & BERNSTEIN, P.L.C.  
1941 Roland Clarke Place  
Reston, VA 20191  
(703) 716-1191

대한민국 특허청  
KOREAN INTELLECTUAL  
PROPERTY OFFICE



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

출원번호 : 특허출원 2001년 제 24513 호  
Application Number PATENT-2001-0024513

출원년월일 : 2001년 05월 07일  
Date of Application MAY 07, 2001

출원인 : 신갑균 외 2명  
Applicant(s) SHIN, GAB-GYUN, et al.

2001 년 12 월 26 일

특 허 청 장  
COMMISSIONER

## 【서지사항】

【서류명】 특허출원서  
 【권리구분】 특허  
 【수신처】 특허청장  
 【제출일자】 2001.05.07  
 【발명의 명칭】 버섯 분말 또는 버섯 추출물을 포함하는 유산균배지, 상기 배지를 이용한 버섯 유산발효 조성물 및 상기 조성물의 제조방법  
 【발명의 영문명칭】 MEDIUM COMPOSITION FOR LACTOBACILLUS COMPRISING MUSHROOM POWDER OR MUSHROOM EXTRACTS, COMPOSITION OF MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTATION USING THE MEDIUM COMPOSITION, AND METHOD FOR MANUFACTURING THE COMPOSITION OF MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTATION

## 【출원인】

【성명】 김범규  
 【출원인코드】 4-2000-026396-2

## 【출원인】

【성명】 신갑균  
 【출원인코드】 4-1999-047849-3

## 【출원인】

【성명】 전병삼  
 【출원인코드】 4-2001-017409-8

## 【대리인】

【성명】 조현석  
 【대리인코드】 9-1998-000547-9

【포괄위임등록번호】 2001-024300-6

【포괄위임등록번호】 2001-024306-0

【포괄위임등록번호】 2001-024330-1

## 【대리인】

【성명】 김항래  
 【대리인코드】 9-1999-000315-2

【포괄위임등록번호】 2001-024303-8

【포괄위임등록번호】 2001-024308-4

【포괄위임등록번호】 2001-024332-5

## 【발명자】

【성명】

김범규

【출원인코드】

4-2000-026396-2

## 【발명자】

【성명】

신갑균

【출원인코드】

4-1999-047849-3

## 【발명자】

【성명】

전병삼

【출원인코드】

4-2001-017409-8

## 【취지】

특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인

조현석 (인) 대리인

김항래 (인)

## 【수수료】

【기본출원료】

20 면 29,000 원

【가산출원료】

7 면 7,000 원

【우선권주장료】

0 건 0 원

【심사청구료】

0 항 0 원

【합계】

36,000 원

【감면사유】

개인 (70%감면)

【감면후 수수료】

10,800 원

## 【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)\_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 버섯 분말 또는 버섯추출물을 포함하는 유산균배지, 상기 배지를 이용하여 유산 발효시킴으로써, 버섯이 갖는 항산화작용 등 약리효과를 유지 내지 강화시키는 동시에, 아울러 유산균의 발효속도 증가 또는 유산균의 약리효과를 강화시킨 버섯 유산발효 조성물 및 상기 조성물의 제조방법에 관한 것이다.

【대표도】

도 1

## 【명세서】

## 【발명의 명칭】

버섯 분말 또는 버섯 추출물을 포함하는 유산균배지, 상기 배지를 이용한 버섯 유산발효 조성물 및 상기 조성물의 제조방법 {MEDIUM COMPOSITION FOR LACTOBACILLUS COMPRISING MUSHROOM POWDER OR MUSHROOM EXTRACTS, COMPOSITION OF MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTATION USING THE MEDIUM COMPOSITION, AND METHOD FOR MANUFACTURING THE COMPOSITION OF MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTATION}

## 【도면의 간단한 설명】

도 1은 버섯 분말 또는 버섯추출물을 포함하는 유산균배지를 이용한 버섯 유산발효 조성물의 개략적인 제조공정도.

## 【발명의 상세한 설명】

## 【발명의 목적】

## 【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<2> 본 발명은 버섯 분말 또는 버섯추출물을 포함하는 유산균배지, 상기 배지를 이용하여 유산 발효시킴으로써, 버섯이 갖는 항산화작용 등 약리효과를 유지 내지 강화시키는 동시에, 유산균의 발효속도 증가 또는 유산균의 약리효과를 또한 강화시킨 버섯 유산발효 조성물 및 상기 조성물의 제조방법에 관한 것이다.

<3> 경제성장의 발달로 풍족한 식생활을 영위하며 식생활 패턴의 변화로 인해 비혈관계 질환, 심장병, 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 순환기계 질환과 암 발생량으로 인한 사망률이 크게 증가하여 큰 사회적 문제로 제기되고 있다. 이러

한 만성 퇴행성 질환들은 생체내 지질대사의 장애에 기인하여 발생하는 것과는 무관하지 않다. 최근, 건강 증진을 위한 생리활성 물질 탐색에 관한 연구가 여러 방향에서 활발하게 진행되고 있으며, 우리가 일상적으로 섭취하고 있는 식품 재료 중에서도 지질 개선효과가 있는 천연성분 및 항산화 효과가 있는 천연성분이 다수 보고되고 있는데, 특히 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있는 버섯류도 항산화 물질로서 큰 관심을 끌고 있다.

<4> 사실 생체 내에서 산화 스트레스에 의한 free radical 생성은 생체막 지질을 과산화 시킬 수 있으며, 과산화지질의 증가는 여러 조직을 손상시켜 대사 장애를 초래함으로써 이들 만성 퇴행성 질환들의 유발과 밀접한 관련을 가진 것으로 알려지고 있어서, 생체 내에서 free radical 형성에 의한 체내의 산화적 손상을 억제시킬 수 있는 생리활성 물질이 있다면 이는 순환기계 질환과 암 등 만성 질환의 발병률을 낮추는 데에도 크게 기여할 것이기 때문에, 최근 건강에 대한 열망이 고조되는 상황에서 버섯을 이용한 가공식품이 잇따라 개발되고 있는 추세에 있다.

<5> 그러나 아직은 염장캔류, 드링크류, 분말차류, 스낵류 등 단순한 가공품에 불과한데, 현재 우리나라에서 개발되어 시판되고 있는 버섯가공식품류를 살펴보면, 영비전이나 운지전 등과 같은 드링크류가 주종을 이루고 있으며, 그 외 양송이불수면, 영지 및 운지차, 표고버섯가루, 표고버섯부각가루, 노타리버섯 고, 표고버섯전조품, 버섯국수전골, 양송이커리, 노타리버섯 및 표고버섯스낵 등이 있다.

<6> 한편, 유산균은 포도당 또는 유당과 같은 탄수화물을 이용해 유산을 만드는 균으로 기원전 3000년 전부터 발효유나 치즈를 제조하는 데 주로 사용해 왔는데, 러시아 태생의 미생물학자인 메치니코프가 불가리아 장수촌에 대한 연구결과 발효유를 장기간 먹을 경우 유산균이 소화기관에 들어가 유해세균을 억제해 노화를 방지한다는 사실을 발견한 이후, 유럽에서는 유산균 발효유를 상품화, 판매하기 시작했으며 동시에 유산균의 건강 효과를 밝히기 위한 연구도 꾸준히 진행해 왔다. 현재까지 밝혀진 유산균의 건강 효과는 정상작용으로 설사·변비 예방, 유해세균 억제로 장암 및 노화 방지, 비타민 생성으로 발육촉진, 콜레스테롤 조절로 성인병 예방 및 면역력 증강 등이다.

<7> 이와 같은 유산균은 사람이나 동물의 소화관이나 수집종의 농산물에 이르기까지 자연계에 널리 분포되어 있으며, 또한 요구르트, 유산균음료, 치즈, 발효버터, 된장, 간장, 김치, 소시지 등의 식품에서 유산균체제 등의 약품 제조나 사료 첨가제에 이르기까지 적극적으로 이용되고 있다.

<8> 상술한 바와 같이, 버섯과 유산균은 건강식품으로서 널리 이용되고 있으나, 버섯과 유산균이 상호 작용하여 시너지 효과를 창출한다는 사실은 알려진 바 없다.

<9> 사실 한국 특허 출원번호 제 96-63883호에서는 표고버섯 쥬리를 함유하는 농후발효유를 개시하고 있으나, 상기 출원발명은 표고버섯을 쥬리화하여 유산균 발효유에 단순 혼합함으로써, 표고버섯과 유산균발효유를 동시에 섭취할 수 있도록 하였을 뿐이기 때문에, 버섯과 유산균이 상호 작용하여 얻어지는 시너지 효과를 실행시킬 수 없다.



- <10> 따라서, 각각이 인체에 매우 유익한 건강식품인 버섯과 유산균이 별개로 작용할 때보다, 상호 작용하여 일어나는 시너지 효과를 이용한다면 이제까지 알려진 버섯 또는 유산균을 이용한 가공식품보다 우수한 새로운 건강식품이 얻어질 수 있다.

**【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】**

- <11> 본 발명은 상기와 같은 점에 착안하여, 버섯 분말 또는 버섯추출물을 포함하는 유산균배지를 제공하는 것을 목적으로 한다.

- <12> 본 발명은 또한 상기 배지를 이용하여 유산 발효시킴으로써, 버섯이 갖는 항산화작용 등 약리효과를 유지 내지 강화시키는 동시에, 유산균의 발효속도 증가 또는 유산균의 약리효과를 또한 강화시킨 버섯 유산발효 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

- <13> 본 발명은 또한 상기 버섯 유산발효 조성물의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

**【발명의 구성 및 작용】**

- <14> 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 버섯 분말 또는 버섯 추출물을 포함한 유산균배지조성물을 제공한다.

- <15> 본 발명은 또한 탈지분유 5-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 텍스트린 0.8-1.5중량%, 및 버섯건조분말 0.5-5중량% 또는 버섯 사실제 추출물 0.1-5중량%를 각각 또는 같이 포함하고, 전량의 상재수를 포함하는 유산균 배지조성물을 제공한다.

- <16> 본 발명은 상기 배지 조성물에 포함되는 버섯이 식용버섯 또는 약용버섯의 자실체 또는 균사체의 건조분말 또는 추출물인 유산균 배지 조성물을 제공한다.
- <17> 본 발명은 또한 상기 유산균배지조성물에 포함되는 버섯분말 또는 버섯추출물이 표고버섯, 느타리버섯, 영지버섯이 혼합된 것인 유산균 배지 조성물을 제공한다.
- <18> 본 발명의 유산균배지조성물에 포함되는 표고버섯, 느타리버섯, 영지버섯은 0.5~5:0.5~5:0.5~3의 중량비로 혼합되는 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 4:4:2로 혼합되는 것이다.
- <19> 본 발명은 또한 상기 유산균배지조성물에 유산균을 접종하여 얻어진 버섯 유산발효조성물을 제공한다.
- <20> 또한, 본 발명은 유산균배지를 준비하는 단계: 상기 배지에 유산균 균주를 접종하는 단계: 상기 접종된 유산균 균주를 배양하는 단계: 및 상기 배양된 유산균 균주를 숙성하는 단계를 포함하는 버섯 유산발효조성물 제조방법을 제공한다.
- <21> 본 발명의 버섯 유산발효 조성물 제조방법에서 상기 유산균배지는 탈지분유 5-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 텍스트린 0.8-1.5중량% 및 버섯 건조분말 0.5-5중량% 또는 버섯 추출물 0.1-5중량%를 각각 또는 같이 포함하고, 산량의 정제수를 포함하는 것이 바람직하다.
- <22> 본 발명의 버섯 유산발효 조성물 제조방법에서 상기 유산균배지 준비단계가 탈지분유에 올리고당, 텍스트린, 및 버섯분말 또는 버섯 추출물을 각각 또는 같이 첨가하고, 산량의 정제수를 균질화 하는 단계: 상기 균질화된 배지를 가열서

리하는 단계; 및 상기 가열처리된 배지를 냉각하는 단계를 포함하는 것이 바람직하다.

<23> 본 발명의 버섯 유산발효 조성물 제조방법에서 상기 유산균 균주 접종단계는 상기 냉각된 배지에 유산균을 접종하는 것을 포함하는데, 이 때 유산균의 접종량은 전체 배지 조성물 중량의 3%인 것이 바람직하며, 상기 유산균 균주 배양단계는 35-40℃의 항온기에서 10-20시간 배양하는 단계를 포함하고, 상기 유산균 균주 숙성단계는 4℃에서 12시간동안 숙성하는 단계를 포함하는 것이 바람직하다.

<24> 본 발명은 또한 상기 유산균배지 준비단계가 탈기분유 13%, 버섯분말 1중량%, 버섯주술물 1중량%, 올리고당 10중량%, 덱스트린 1중량% 및 첨제수 1중량을 첨가하여 균질화하는 단계; 상기 균질화된 배지를 80℃에서 30분간 가열처리하는 단계; 및 상기 가열 처리된 배지를 37℃로 냉각하는 단계를 포함하고, 상기 유산균배지 접종단계는 상기 냉각된 배지에 유산균을 접종하는 것을 포함하는데, 이 때 유산균의 접종량은 전체 배지 조성물 중량의 3%이며, 상기 유산균배지 배양단계는 37℃의 항온기에서 12시간 배양하는 단계를 포함하고, 상기 유산균 균주 숙성단계는 4℃에서 12시간동안 숙성하는 단계를 포함하는 버섯 유산발효 조성물의 제조방법을 제공한다.

<25> 본 발명은 상기 제조방법 중 어느 하나의 제조방법에 의해 제조된 버섯 유산발효 조성물을 제공한다.

<26> 본 발명은 또한 콜레스테롤 수치를 감소시키는 유효성분을 포함하는 버섯 유산발효 조성물을 제공한다.

<27> 본 발명은 혈건현상을 예방하는 유효성분을 포함하는 버섯 유산발효 조성물을 제공한다.

<28> 버섯은 아주 오랜 옛날부터 인류의 산림 자원, 식량 자원, 약용 자원이 되어 왔다. 다시 말해 버섯은 유기물을 분해하여 생태계에 환원시키고 식물과 공생하여 산림을 가꾸는 데 이용하여 온 산림 자원으로서, 고대 사람들에게는 '대지의 음식' 또는 '요정의 화신'으로 생각될 정도로 중요한 식량 자원이었을 뿐만 아니라, 독특한 향기와 맛뿐만 아니라 영양 가치가 높아서 중국 사람들은 버섯을 불로장수의 영약으로 소중하게 여겨왔다.

<29> 버섯은 식용버섯(食用 edible mushrooms), 약용버섯(藥用 medicinal mushrooms), 독버섯(毒 Poisonous Mushrooms) 등으로 크게 3가지로 나눌 수 있는데, 버섯의 종류는 세계적으로 15,000여종이 알려져 있으며, 이 중 식용으로 개발 가능한 것은 약 2,000여종으로 알려져 있다. 현재 우리나라에 기록되어 있는 버섯류는 885종으로서 약 450종이 버섯도감에 기록되어 있고, 이 중 161종이 식용버섯이며, 약용버섯이 41종 그리고 약 43종이 독버섯으로 분류되어 있다. 그리고 부가적으로 국내에 자생(自生)하고 있는 동충하초(冬蟲夏草)는 약 71종이 알려져 있다.

<30> 식용 버섯은 70~95%의 수분과 5~30%의 유기 및 무기 성분으로 되어 있는데, 건조시킨 버섯은 15~30% 정도의 단백질, 2~10%의 지방과 50% 안팎의 가용성 무기물이 들어 있고 5~10%의 조지방유와 갈륨, 인산, 회분 등이 함유되어 있다. 일반적으로 맛이 좋은 식용 버섯에는 아미노산, 마니트, 트레알로오스 등이 많이 함유

며 그밖에 비타민 B2와 D의 전구체인 에르고스테린 같은 여러 비타민류와 효소도 들어 있다고 알려져 있다.

<31> 또한, 최근 버섯은 항암 효과, 항변이원성 효과, 혈청 지질저하 효과, 면역증강 효과 등 노화억제 및 성인병 예방과 치료에 효험이 있는 것으로 알려지면서 식용뿐만 아니라 약용으로도 그 이용성이 날로 증대하고 있는데, 이러한 생리활성이 기대되는 버섯류에는 영지, 표고, 느타리, 상황, 아가리쿠스, 벽물, 목이 및 석이 등의 식용 및 약용 버섯류가 알려져 있다. 특히 영지버섯의 약효성분으로 열수 추출액에 함유되어 있는 다당류와 단백질 복합체인 polysaccharide protein complex가 보고된 바 있으며, 암세포 생육 억제, 본태성 고혈압 치료, 과산화지질 생성 억제 효과 등이 보고된 바 있다. 식용으로 널리 이용되고 있는 표고버섯에는 항암작용, 콜레스테롤 저하작용, 강장, 이뇨, 고혈압, 신장염, 천식, 위궤양 등의 치료에도 효능이 있어 약용으로도 널리 이용되고 있으며, 표고버섯 열수 추출물은 혈청 및 간장의 지질 저하 작용 및 간손상 억제 작용이 보고된 바 있다. 또한, 느타리버섯의 다당류 추출물은 혈청 콜레스테롤 저하효과 및 사염화탄소 유발 간손상 억제작용과 느타리버섯 자실체 및 균사체 추출물의 항산화효과가 있는 것으로 보고된 바 있다.

<32> 한편, 유산균에 속하는 세균으로는 연쇄상 구균, 테티오코카스, 류코노스톡, 유산균과, 락토바실러스를 수직종에 남하고 있다. 유산균은 사람이나 동물의 소화관이나 수직종의 농산물에 이르기까지 자연계에 널리 분포되어 있으며, 요쿠르트제조에는 불가리아균, 요쿠르트균, 스트렙토코커스균이 사용되고, 유산균음료 제조에는 요쿠르트균, 카제이균, 애시도 필러스균등이 사용되며, 치즈의 제조에는

카제이균, 크레프리스균, 헤베리키스균, 유(乳)연쇄상구균이 사용되고, 발효버터에도 유연쇄상구균이 사용됨으로써 각각 특징 있는 제품이 만들어진다. 이와 같이 식품 가공과정에서 각각 제조하는데 정해진 종류의 유산균이 관계되고 있다.

<33> 유산균은 장내 상피세포에 부착하여 대사 활동을 하여 유산, 지방산(적급), 항생물질(bacteriocin),  $H_2O_2$  등을 분비하여 유해균을 억제하며, 유산균 발효로 생성되는 HMG(Hydroxy Methyl Glutaric), Orotic Acid, Uric Acid 등에 의한 콜레스테롤 생성이 저해되고, 특히 락토바실러스 애시도필러스(유산균의 일종)는 직접 콜레스테롤을 분해한다. 또한 유산균은 면역계에서 병원균을 감지하는 마이크로파아지 활성화를 통해 세균, 바이러스의 신속한 감지, 임파구 분열 촉진으로 인한 암세포 증식 방지, 혈액내의 항체인 Ig A의 생산을 증가시키고, 간담-인테페론 생성을 증강하여 면역력을 증진할 뿐만 아니라, 음식물의 영양학적 가치를 증진시키고, 내인성 감염을 억제하는 작용을 하며, 장내의 발암물질 생성 유해균의 생육억제 및 사멸을 유도하여 항암작용 등을 한다.

<34> 따라서 본 발명은 이러한 다양한 생리활성 기능을 가진 버섯 및 유산균이 가진 별개의 기능성을 증대시킬 뿐만 아니라, 둘 중 어느 하나로서는 얻지 못하는 시너지적 기능성을 얻기 위해, 버섯과 유산균을 동시에 이용한다.

<35> 이하에서는 본 발명의 고유한 특성 및 수행하는 방법을 더 잘 기술하기 위해, 실시예가 기술된다. 그러나, 본 발명이 실시예의 상세한 기술에 의해 제한되는 것으로 고려되어서는 안 된다.

· (36) 실시예1

· (37) 탈기분유 13중량%, 버섯균사체분말 1중량%, 올리고당 10중량%, 텍스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배양배지 조성물을 준비한다.

· (38) 여기서, 버섯은 식용버섯 또는 약용버섯이면 어느 것이나 가능하다.

· (39) 실시예2

· (40) 탈기분유 10중량%, 버섯자실체 추출물 1중량%, 올리고당 10중량%, 텍스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배양배지 조성물을 준비한다.

· (41) 여기서, 버섯은 식용버섯 또는 약용버섯이면 어느 것이나 가능하다.

· (42) 실시예3

· (43) 탈기분유 13중량%, 버섯균사체 건조분말 1중량%, 버섯 자실체 추출물 1중량%, 올리고당 10중량%, 텍스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배양배지 조성물을 준비한다.

· (44) 여기서, 버섯은 식용버섯 또는 약용버섯이면 어느 것이나 가능하다.

· (45) 실험예1

· (46) 버섯분말 또는 버섯추출물을 구성성분으로 포함하는 배지에서의 배양효과

· (47) 버섯분말 또는 버섯추출물을 구성성분으로 하는 배지조성물이 현재 시판되고 있는 배양배지보다 유산균을 더욱 증식시키는지 알아보기 위하여, 실시예

1,2,3 및 한천이 제거된 BL배지(주식회사영연화학, 일본국) 및 MRS배지(Difco, USA)에, 한천이 제거된 BL배지(주식회사영연화학, 일본국)에서 37℃로 14시간 배양된 비피도박테리움 롱검 KCTC8649P (*Bifido bacterium longum* KCTC8649P)종균을 3% 접종한 다음, O<sub>2</sub>가 제거된 CO<sub>2</sub>로 삼각플라스크 공간을 치환하고, 37℃에서 혐기적으로 16시간 배양하였다. 각각의 배양액 100 $\mu$ l를 취하여 희석액으로 희석한 다음, BL한천배지에 하나의 플레이트당 30-300개의 집락을 이루도록 도말하였다. 그런 다음 37℃의 혐기 배양기에서 48시간 배양하여 나타난 집락수를 헤아리고 희석배수를 곱하여 생균수를 계산하여 그 결과를 하기의 표1에 나타내었다.

<48> 【표 1】

본 발명의 배지와 공적 배지에서의 생균수 비교

구분	생균수 (cfu/ml)
삼각예 1	3.8 x 10 <sup>9</sup>
삼각예 2	3.5 x 10 <sup>9</sup>
삼각예 3	3.9 x 10 <sup>9</sup>
BL 배지	2.7 x 10 <sup>9</sup>
MRS 배지	2.6 x 10 <sup>9</sup>

<49> 상기 표 1로부터, 본 발명의 배지는 시판되고 있는 배지보다 유산균을 고농도로 증식시킴을 알 수 있다.

<50> 삼각예2

<51> 머싯 유산발효 조성물의 제조

<52> 1.머싯 분말의 제조



<53> 버섯의 자실체 또는 균사체의 이물질을 제거한 후, 1-2회 세척하여 60℃에서 열풍건조하여 이를 분쇄한다.

<54> 2. 버섯 자실체 추출물의 추출

<55> 버섯 자실체의 이물질을 제거한 후 1-2회 세척하여 60℃에서 열풍건조하여, 이를 분쇄한 후, 버섯 자실체 전체 중량비 8-10배의 정제수를 가하고 2시간씩 2내지 3회 열탕추출한다.

<56> 3. 버섯 유산 발효 조성물의 제조

<57> 준비된 버섯 분말 1중량%와 버섯 자실체 추출물 1중량%를 탈지분유 13중량%에 첨가하여 균질화시킨 후 80℃에서 30분동안 가열처리한 후, 37℃로 냉각시켜 상기 혼합물 전체 중량의 3중량%의 양으로 락토바실러스 불가리쿠스를 접종하고 37℃의 항온기에서 12시간 발효시킨 후, 4℃에서 냉장보관하며 12시간 동안 숙성시킨다.

<58> 실험예2

<59> 본 발명의 버섯 유산발효 조성물이 과산화지질에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 콜레스테롤 함유 식이에 유산균 발효유, 표고버섯(*Lentinus edodes*), 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)과 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)의 건조 혼합분말, 및 표고버섯, 느타리버섯과 영지버섯이 4:4:2로 혼합된 혼합 분말 또는 추출액을 포함하는 유산균 배양매지에 유산균을 접종하여 얻어진 버섯 유산발효 조성물을

각각 첨가하여 4주일 동안 섭취시킨 암컷 흰쥐(rats)에서 각 조직의 과산화지질에 미치는 영향을 *in vivo* 실험계에서 검토하였다.

#### <60> 1. 실험재료

<61> 실험재료인 표고버섯(*Lentinus edodes*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*), 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)의 건조품은 진주버섯영농조합 법인으로부터 2000년 10월경에 제공받아 실험에 사용하였다. 이들 버섯의 건조품을 세절하여 분쇄한 후 20 mesh에 통과하여 분말을 얻었다.

#### <62> 2. 실험동물, 사육조건 및 식이 조성

<63> 실험동물은 180 g 전후의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 경상대학교 의과대학 동물실험실에서 분양 받아 온도 22±2°C, 습도 50~55%, 명암주기 12시간 (명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 1주일간 시판 고형식으로 사육한 후, 다시 정상 기본 식이로 4일간 예비 사육하여 환경에 적응시킨 후, 평균 체중이 동일하게 6마리씩 5군으로 나누어 본 실험을 시작하였다. 실험 식이군은 정상 식이군(ND)과 정상식이군에 0.5%(w/w) 콜레스테롤과 0.125%(w/w) 콜산나트륨을 첨가한 콜레스테롤 식이군(CD), 콜레스테롤 식이에 유산균 발효유를 첨가한 유산균 발효유 첨가군(CDFM), 콜레스테롤 식이에 버섯 분말을 첨가한 버섯 분말 첨가군(CDMP) 및 콜레스테롤 식이에 버섯 유산발효 조성물을 첨가한 버섯 유산발효 조성물 첨가군(CDFMMP)으로 구성하였다. 이때 CDMP군의 버섯 분말은 표고버섯: 느타리버섯: 영지버섯을 혼합한 혼합물을 주출한 버섯추출물을 4% 수준으로 첨가하였고, 그 대신에 sucrose에서 동량을 제외시켰다. 또한, CDFM군은 시판 유산균으로 널리 사용되고 있는

*Lactobacillus bulgaricus*를 사용하여 30℃에서 12시간 배양한 유산균 발효유를 동결건조시켜 식이중에 13.5%(시판 유산균 발효유 100 ml에 해당하는 무게) 수준으로 첨가하고, 그 대신에 sucrose에서 동량을 제외시켰다. CDFMMP균은 표고버섯: 느타리버섯: 영지버섯을 4:4:2로 혼합한 분말을 4% 수준으로 *Lactobacillus bulgaricus* 배양액에 첨가하여 30℃에서 12시간 배양한 버섯 유산균 발효조성물을 동결건조시켜 식이중에 17.5%(시판 유산균 발효유 100 ml에 해당하는 무게+버섯 혼합분말 4%) 수준으로 첨가하고, 그 대신에 sucrose에서 동량을 제외시켰다. 이와 같은 실험식이군에 따른 실험식의 조성은 표2에 개시된 바와 같고, 이렇게 조제한 실험 식이와 음료수는 4주간 자유급여 시켰으며, 사육 기간 중 식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하고, 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다.

## &lt;64&gt; 【표 2】

각이 조성 구성 성분	ND	CD	CDFM	CDME	비타민산발효 조성물
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
$\alpha$ -Corn starch	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Soybean oil	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
AIN-93 mineral mixture	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
AIN-93 vitamin mixture	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
L-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	0.0	0.5	0.5	0.5	0.5
sodium cholate	0	0.125	0.125	0.125	0.125
Fermented milk(FM)	0	0	13.5	0	0
Mushroom extracts(ME)	0	0	0	4.0	0
비타민산발효 조성물	0	0	0	0	17.5
sucrose	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량

<65> ND: 정상식이군(대조군:the normal diet)

<66> CD: 콜레스테롤식이군(the cholesterol diet)

<67> CDFM: 콜레스테롤 식이군에 유산균 및 효소를 첨가한 유산균 첨가군(the cholesterol diet supplemented fermented milk)

<68> CDME: 콜레스테롤식이군에 비섯주출물을 첨가한 비섯 주출물 첨가군(the cholesterol diet supplemented mixture mushroom Extracts)

<69> CDFMME: 콜레스테롤식이균에 버섯유산발효조성물을 첨가한 버섯유산발효 첨가균  
(the cholesterol diet supplemented fermented milk containing mixture  
mushroom Extracts)

<70> 3. 분석시료의 조제

<71> 실험 최종일 실험동물을 12시간 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 복  
부 대동맥으로부터 채혈하였다. 얻어진 혈액은 약 30분간 실온에서 방치시킨 후  
3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 혈청을 과산화지질 농도 분석에 사용하  
였다. 적출 한 각 조직은 미리 냉각된 0.9% 생리식염수로 충분히 세척하고 물기  
를 제거한 다음 무게를 측정하고, 과산화지질 농도 분석에 제공하였다.

<72> 4. 혈청과 간장 지질 및 혈당 분석

<73> 혈청 총 콜레스테롤은 Cholesterol C-test wako kit(Wako Junyaku, Osaka,  
Japan), 혈청 HDL-콜레스테롤은 HDL-cholesterol E-test wako kit(Wako Junyaku,  
Osaka, Japan), 혈청 중성지질은 Triglyceride E-test wako kit(Wako Junyaku,  
Osaka, Japan), 혈청 인지질은 Phospholipid C-test wako kit(Wako Junyaku,  
Osaka, Japan), 혈청 glucose 농도는 glucose oxidase 법에 따라 조제된 시판  
kit(Wako Junyaku, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. 간장 조직중의 지질은  
Folch 등의 방법에 준하여 추출한 후 혈청 지질농도 측정과 동일한 방법으로 실  
측하였다.

<74> 5. 각 조직의 homogenate, microsome 및 mitochondria 분획의 조제

· 75·        적출한 각 조직은 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 homogenizer로 균질화 시켰다. 이 용액의 일부를 homogenate 분획으로 하고, 나머지 용액으로부터 microsome 분획과 mitochondria 분획을 분리하였다.

· 76·        6. 각 조직 분획의 과산화지질 농도 정량

· 77·        각 조직의 과산화지질 농도는 다음과 같이 측정하였다. 즉, 각 조직 homogenate, microsome 및 mitochondria 분획 용액 1 ml에 각각 thiobarbituric acid(TBA) 시약 2 ml을 가하여 잘 혼합하고, 수조상에서 15분간 가열한 후 냉각시켜 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 한 후 상층액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 조직의 과산화지질 농도는 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

· 78·        7. 통계처리

· 79·        실험으로부터 얻어진 결과치는 one-way ANOVA에 의한 평균치와 표준오차 (mean S.E.)로 표시하였으며, 각 실험 군간의 유의성 검정은  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 하였다.

· 80·        8. 결과

· 81·        (1) 혈청 지질 농도의 변화

· 82·        혈청 지질 농도 변화는 표 3과 같다.

## &lt;83&gt; 【표 3】

실험동물의 혈장내 지질 및 글루코스의 농도

구분		ND	CD	CDFM	CDME	비실험발효 조성물
혈장 내 지질 (mg/ 100ml)	Total Cholesterol	60.49±8.11 <sup>a</sup>	279.93±45.62 <sup>c</sup>	155.07±18.60 <sup>b</sup>	123.77±18.55 <sup>ab</sup>	80.41±9.01 <sup>a</sup>
	HDL-Cholesterol	42.25±5.79 <sup>a</sup>	16.55±0.88 <sup>b</sup>	19.14±1.88 <sup>b</sup>	38.55±1.69 <sup>a</sup>	41.25±5.99 <sup>a</sup>
	Triglyceride	138.17±4.52 <sup>a</sup>	127.28±2.94 <sup>a</sup>	113.34±2.69 <sup>ab</sup>	135.12±2.56 <sup>a</sup>	128.17±2.65 <sup>a</sup>
	Phospholipid	101.32±9.16 <sup>ab</sup>	131.66±2.14 <sup>b</sup>	87.80±1.80 <sup>a</sup>	101.76±8.31 <sup>ab</sup>	97.42±6.52 <sup>ab</sup>
AI <sup>1)</sup>		0.34±0.03 <sup>a</sup>	15.91±1.71 <sup>b</sup>	7.10±0.49 <sup>c</sup>	2.53±0.06 <sup>a</sup>	0.89±0.06 <sup>a</sup>
Serum glucose (mg/100 ml)		93.57±8.23	100.11±4.23	81.18±9.69	93.45±4.63	97.63±1.98

<84> (상기 값은 그룹당 6 마리 rats의 평균 ±SE이고, <sup>1)</sup>Atherogenic index(AI)는

total cholesterol - HDL cholesterol / HDL cholesterol이며, 다른 문자를 가진

값은 p<0.05의 차이를 가진다.)

<85> 상기 표3으로부터 혈청 총 콜레스테롤 농도는 정상 식이군(ND)과 비교하여 콜레스테롤 식이군(CD)에서는 약 4.6배의 증가를 나타내어 고콜레스테롤 지혈증을 나타냄을 알 수 있다. 그러나 콜레스테롤 식이군(CD)과 대비하여 콜레스테롤이 유산균 첨가군(CDFM)에서는 44.6%, 비실험추출물 첨가군(CDMP)에서는 57.4%, 그리고 비실험 유산발효 조성물 첨가군(CDFMMP)에서는 72.0% 감소효과가 나타났음을 알 수 있다.

<86> 따라서, 비실험 유산발효 조성물 첨가군(CDFMMP)에서 콜레스테롤의 저하효과와 비실험추출물 첨가군 및 유산균 첨가군의 저하효과에 비해 현저하게 상승된 것

이 분명하여, 버섯추출물 또는 유산균을 각각 사용할 때보다 양자를 같이 사용하면, 혈청 콜레스테롤 감소에 현저한 시너지 효과를 나타내는 것이 명백하다.

<87> 또한, 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 버섯추출물 또는 버섯 유산발효 조성물 첨가군에서는 증가하나, 유산균 첨가군에서는 이러한 증가효과가 없는 것으로부터, 버섯에 HDL-콜레스테롤 농도를 증가시키는 생리활성 작용이 존재하며, 또한 버섯추출물 첨가군에 비해 버섯 유산발효 조성물 첨가군의 증가율이 더 높은 것으로부터 버섯과 유산균이 동시에 작용하면 버섯의 HDL-콜레스테롤 농도를 증가시키는 생리활성이 강화되는 것으로 보인다.

<88> 또한, Framingham Heart study에서는 동맥경화 지수가 3.5 이하이면 관상동맥 질환의 발생 위험으로부터 안전한 수준이며, 적어도 4.5 이하를 유지하도록 권장하고 있으므로, 상기 표3에서 동맥경화 역각 실험군간의 동맥경화 지수(AI)를 살펴보면, 정상 식이군(ND)에 비해 콜레스테롤 식이군(CD)에서 동맥경화 지수는 현저히 증가하였다. 그러나, 콜레스테롤 식이군(CD)의 증가된 동맥경화 지수는 유산균 첨가군(CDFM)에서는 약간 감소하는 나타났으나, 버섯추출물 첨가군(CDMP) 및 버섯 유산발효 분말 함유 젖산균 발효유 첨가 식이군(CDFMMP)에서는 각각 68.4% 및 83.3% 감소한 것을 알 수 있어, 동맥경화 지수의 감소효과 또한 버섯과 유산균의 시너지 효과가 있음을 알 수 있다.

<89> (2) 생체내 과산화지질 생성 정도

<90> 생체내의 지질 과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 또는 당뇨병 등에 의한 병태 생리학적 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 가장 중요한 기전으로 인정되고 있다. 이러한 기전은 조직내 세포의 산화적 스트레스에 의한



free radical 생성 증가 및 체내 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기된다. 동물 체내에서 생체막 과산화지질의 생성 정도를 나타내는 TBARS 농도를 측정한 결과는 표 4와 같다.

<91> 【표 4】

암컷 Rats 조직의 TBARS levels(nmol/g tissue)

Ingredients	ND	CD	CDFM	CDMP	CDFMMP
Liver(간)	117.74 $\pm$ 4.71 <sup>a</sup>	121.45 $\pm$ 3.43 <sup>a</sup>	102.15 $\pm$ 9.52 <sup>b</sup>	123.37 $\pm$ 10.28 <sup>a</sup>	99.07 $\pm$ 5.68 <sup>b</sup>
Heart(심장)	25.50 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	24.27 $\pm$ 0.42 <sup>ab</sup>	24.16 $\pm$ 0.56 <sup>ab</sup>	24.17 $\pm$ 0.53 <sup>ab</sup>	23.55 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>
Kidney(신장)	14.52 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	27.42 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	22.75 $\pm$ 2.70 <sup>c</sup>	28.34 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>	26.52 $\pm$ 1.12 <sup>b</sup>
Spleen(비장)	13.74 $\pm$ 0.43	13.64 $\pm$ 0.42	13.95 $\pm$ 0.73	14.60 $\pm$ 0.51	14.28 $\pm$ 0.65

<92> (상기 값은 그룹당 6 마리 rats의 평균  $\pm$  SE이고, 다른 문자를 가진 값은  $p < 0.05$ 의 차이를 가진다.)

<93> 표 4를 살펴보면, 각 조직에 있어서 과산화지질 농도의 상대적 함량은 정상식이군과 콜레스테롤 식이군 모두에서 간장, 신장, 심장, 비장 순으로 나타남을 알 수 있다. 콜레스테롤 식이를 4주간 수컷 흰쥐에 자유섭취 시킨 결과에서는 뇌, 신장, 심장, 간장, 비장의 순으로 나타났으며, 정상 식이로 사육한 6개월 수령의 수컷 흰쥐에서 각 조직의 상대적 TBARS 함량은 심장, 간장, 뇌, 신장의 순으로 나타나, 본 실험의 결과와는 약간 다른 경향으로서 종간의 차이, 수령, 식이 조성 등에 의해 조직간의 과산화지질 생성 정도가 다르다는 것을 시사하였다.

<94> 또한 유산균 첨가군 또는 버섯 추출물 첨가군에 비해 통계상의 유의적인 차이는 없었으나, 버섯 발효 유산균 조성물 첨가군이 보다 더 낮은 값을 나타내어,

간 조직, 심장 조직 및 비장의 과산화지질을 감소시키는 작용 또한 유산균과 버섯의 시너지 효과가 있는 것으로 보인다.

<95> 실험예3

<96> 버섯 추출물이 혈소판 응집억제작용(저해율%)에 미치는 영향을 조사하기 위해, rat의 혈액 중 혈소판 현탁액( $4 \times 10^8$  cell/ml)을 조제하고 버섯추출물을 생리 식염수 용액에서 37°C, 2분간 incubation 시킨후 트롬빈으로 응집을 발생시켰다. 표준물질로써 아스피린(aspirin)을 사용하였다. 그 결과는 표 4와 같다.

<97> 【표 5】

아스피린 및 버섯추출물 함량에 따른 혈소판응집반응 억제율

아스피린 ( $\mu\text{g/ml}$ )	버섯추출물( $\mu\text{g/ml}$ )	저해율
20	8	10
40	26	40
80	40	60
110	73	80

<98> 혈전은 주로 혈소판과 세포성분을 둘러싼 피브린으로 구성되는 혈액성분의 응집을 말하며, 때때로 그 형성부에서 혈관의 폐색을 일으킨다. 혈중에 콜레스테롤이 높음으로 인해 혈관내피세포에 주는 대사성 손상의 빈도가 높게되고 이로 인해 혈소판 응집이 생겨 혈전형성이 증가되고, 그렇게 되면 혈관에 죽상경화(ATHEROSCLEROSIS)가 진행되어 각종 혈관성인병을 야기시키게 된다.

<99> 따라서 표 5에서 알 수 있듯이 혈중내의 콜레스테롤 수치를 낮추게 되면 그만큼 혈관내피세포의 대사성 손상도 줄게 될 것이고, 이로 인한 혈전형성도 감소된다.

## 【발명의 효과】

<100> 본 발명에 따른 유산균배지조성물은 지금까지 알려진 다른 유산균배지에 비해 유산균의 생장을 빠르게 하며, 보다 건전한 유산균을 얻을 수 있다.

<101> 또한 상기 유산균배지조성물을 이용하여 제조된 버섯발효조성물은 유산균과 버섯의 약리효과를 상승시킴으로서, 콜레스테롤 수치를 감소시켜 동맥경화 및 혈전현상을 예방하고, 혈액순환을 활성화함으로써 각종 성인병을 예방할 수 있다

<102> 따라서, 기존의 유산균 발효유는 정장작용만을 강조하는 상품이지만, 앞으로 지속적인 경쟁력을 가지려면 다양한 기능을 가진 발효유의 생산이 필요하다 할 것인데, 본 발명은 다양한 약리 활성을 가지는 버섯을 유산균 배양배지로 이용함으로써, 정장작용은 물론이고 그 밖의 다른 약리 활성을 가지는 고 기능성 유산발효조성물을 제공할 수 있는 것이다.

**【특허 청구범위】****【청구항 1】**

버섯 분말 또는 버섯추출물을 포함하는 유산균배지조성물.

**【청구항 2】**

제 1항에 있어서, 상기 배지조성물은 탈지분유 5-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 덱스트린 0.8-1.5중량%, 및 버섯건조분말 0.5-5중량% 또는 버섯 자실체 추출물 0.1-5중량%를 각각 또는 같이 포함하고, 잔량의 정제수를 포함하는 유산균 배지조성물.

**【청구항 3】**

제 1항에 있어서, 상기 배지 조성물에 포함되는 버섯은 식용버섯 또는 약용버섯의 자실체 또는 균사체의 건조분말 또는 추출물인 유산균 배지조성물.

**【청구항 4】**

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 배지조성물에 포함되는 버섯분말 또는 버섯추출물은 표고버섯, 느타리버섯, 영지버섯이 혼합된 것인 유산균 배지 조성물.

**【청구항 5】**

제 4항에 있어서, 상기 배지조성물에 포함되는 표고버섯, 느타리버섯, 영지버섯은 0.5~5:0.5~5:0.5~3의 중량비로 혼합된 것인 유산균 배지 조성물.

**【청구항 6】**

제 4항에 있어서, 상기 배지조성물에 포함되는 표고버섯, 느타리버섯, 영지버섯은 4:4:2의 중량비로 혼합된 것인 유산균 배지 조성물.

**【청구항 7】**

제 1항 또는 제 6항 중 어느 한 항의 유산균 배지조성물에 유산균을 접종하여 얻어진 버섯 유산발효조성물.

**【청구항 8】**

유산균배양 배지를 준비하는 단계:

상기 배지에 유산균 균주를 접종하는 단계:

상기 접종된 유산균 균주를 배양하는 단계: 및

상기 배양된 유산균 균주를 숙성하는 단계를 포함하는 버섯 유산발효조성물 제조방법.

**【청구항 9】**

제 8항에 있어서, 상기 유산균배양배지는 탈지분유 5-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 텍스트린 0.8-1.5중량% 및 버섯분말 0.5-5중량% 또는 버섯추출물 0.1-5중량%를 각각 또는 같이 포함하고, 잔량의 정제수를 포함하는 버섯 유산발효 조성물 제조방법.

**【청구항 10】**

제 8항에 있어서, 상기 유산균배양배지 준비단계는 탈지분유에 올리고당, 텍스트린 및 버섯분말 또는 버섯 추출물을 각각 또는 같이 첨가하고, 잔량의 정

제수를 첨가하여 균질화 하는 단계; 상기 균질화된 배지를 가열처리하는 단계;  
및 상기 가열처리된 배지를 냉각하는 단계를 포함하고,

상기 유산균 균주 접종단계는 상기 냉각된 배지에 전체 배지 조성물 중량의 3%의 유산균을 접종하는 것을 포함하며,

상기 유산균 균주 배양단계는 35-40℃의 항온기에서 10-20시간 배양하는 단계를 포함하고, 상기 유산균 균주 숙성단계는 4℃에서 12시간동안 숙성하는 단계를 포함하는 버섯 유산발효 조성물의 제조방법.

#### 【청구항 11】

개 8항 내지 제 10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유산균배지 준비단계는 탈지분유 13중량%, 버섯분말 1중량%, 버섯추출물 1중량%, 올리고당 10중량%, 락스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 첨가하여 균질화하는 단계; 상기 균질화된 배지를 80℃에서 30분간 가열처리하는 단계; 및 상기 가열처리된 배지를 37℃로 냉각하는 단계를 포함하고,

상기 유산균배지 접종단계는 상기 냉각된 배지에 유산균을 접종하는 것을 포함하는데, 이 때 유산균의 접종량은 전체 배지 조성물 중량의 3%이며,

상기 유산균배지 배양단계는 37℃의 항온기에서 12시간 배양하는 단계를 포함하고,

상기 유산균 균주 숙성단계는 4℃에서 12시간동안 숙성하는 단계를 포함하는 버섯 유산발효 조성물의 제조방법.

【청구항 12】

제 8항 내지 제 11항 중 어느 하나의 제조방법에 의해 제조된 버섯 유산발효 조성물.

【청구항 13】

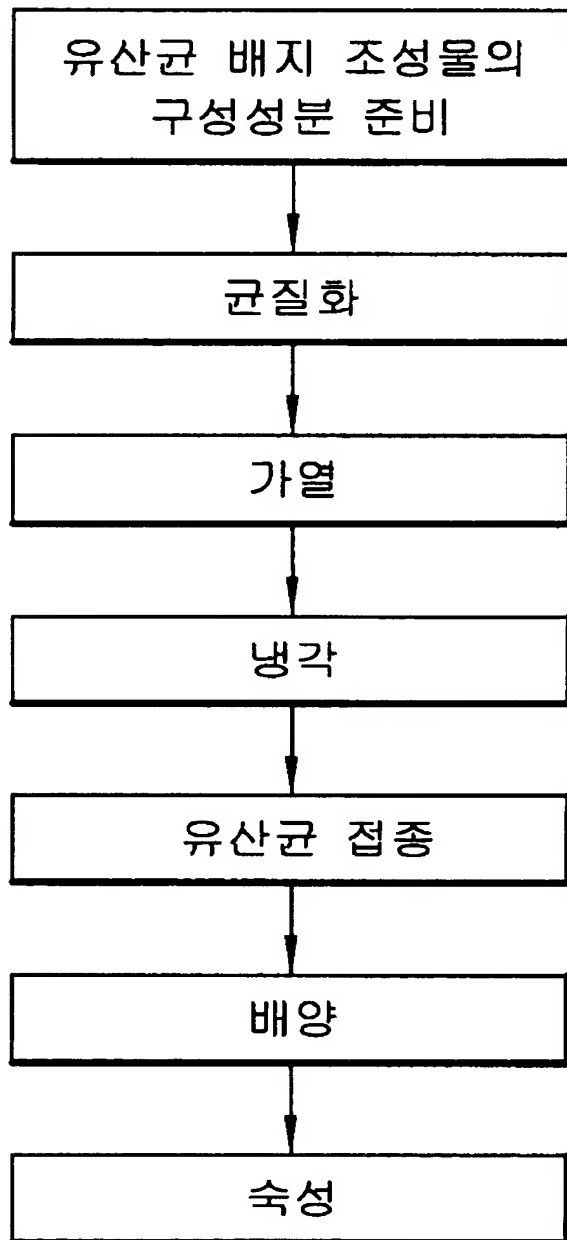
제 12항에 있어서, 상기 조성물은 콜레스테롤 수치를 감소시키는 유효성분을 포함하는 버섯 유산발효 조성물.

【청구항 14】

제 12항에 있어서, 상기 조성물은 혈전현상을 예방하는 유효성분을 포함하는 버섯 유산발효 조성물.

【도면】

【도 1】





대한민국 특허청  
KOREAN INTELLECTUAL  
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

출원번호 : 특허출원 2001년 제 54236 호  
Application Number PATENT-2001-0054236

출원년월일 : 2001년 09월 04일  
Date of Application SEP 04, 2001

출원인 : 주식회사 바이오허브  
Applicant(s) BIOHUB CO., LTD.

2001      년    12    월    21    일

특      허      청      장  
COMMISSIONER

## 【서지사항】

【서류명】 특허출원서  
【권리구분】 특허  
【수신처】 특허청장  
【제출일자】 2001.09.04  
【발명의 명칭】 혈당 강하에 유효한 성분을 포함하는 버섯유산발효액 및 상기 발효액의 제조방법  
【발명의 영문명칭】 MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTED SOLUTION INCLUDING EFFECTIVE INGREDIENTS FOR DECREASING THE VALUE OF BLOOD SUGAR, AND METHOD FOR MANUFACTURING THE SOLUTION

【출원인】  
【명칭】 주식회사 바이오허브  
【출원인코드】 1-2001-035544-1

【대리인】  
【성명】 조현석  
【대리인코드】 9-1998-000547-9  
【포괄위임등록번호】 2001-051760-5

【대리인】  
【성명】 김항래  
【대리인코드】 9-1999-000315-2  
【포괄위임등록번호】 2001-051761-2

【발명자】  
【성명】 김범규  
【출원인코드】 4-2000-026396-2

【발명자】  
【성명】 신갑균  
【출원인코드】 4-1999-047849-3

【발명자】  
【성명의 국문표기】 차재영  
【성명의 영문표기】 CHA, Jae Young  
【주민등록번호】 620808-1920915  
【우편번호】 616-093

**【주소】** 부산광역시 북구 구포3동 816-23번지 서동빌라 나  
동 202호  
**【국적】** KR  
**【발명자】**  
**【성명】** 전병삼  
**【출원인코드】** 4-2001-017409-8  
**【발명자】**  
**【성명의 국문표기】** 배동원  
**【성명의 영문표기】** BAE,Dong Won  
**【주민등록번호】** 670422-1905826  
**【우편번호】** 660-100  
**【주소】** 경상남도 진주시 신안동 708-1 신안주공1차아파트  
104동 502호  
**【국적】** KR  
**【심사청구】** 청구  
**【취지】** 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합  
니다. 대리인  
조현석 (인) 대리인  
김항래 (인)  
**【수수료】**  
**【기본출원료】** 20 면 29,000 원  
**【가산출원료】** 7 면 7,000 원  
**【우선권주장료】** 0 건 0 원  
**【심사청구료】** 8 항 365,000 원  
**【합계】** 401,000 원  
**【첨부서류】** 1. 요약서·명세서(도면)\_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 버섯유산발효액 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 혈당 강하에 효과가 있는 버섯유산발효액 및 상기 발효액의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명에 의한 버섯유산발효액은 당뇨병 환자의 혈당치 저하에 유효한 성분을 가짐으로써, 특히 인슐린 비의존형의 당뇨병 치료에 현저한 효과가 있다.

【대표도】

도 3

**【명세서】****【발명의 명칭】**

혈당 강하에 유효한 성분을 포함하는 버섯유산발효액 및 상기 발효액의 제조 방법{MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTED SOLUTION INCLUDING EFFECTIVE INGREDIENTS FOR DECREASING THE VALUE OF BLOOD SUGAR, AND METHOD FOR MANUFACTURING THE SOLUTION}

**【도면의 간단한 설명】**

도 1a는 대조군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 1b는 요쿠르트 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 1c는 본 발명의 버섯유산발효액 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 2a는 영지버섯추출물 함량이 0.01%인 버섯유산발효액 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 2b는 영지버섯추출물 함량이 0.1%인 버섯유산발효액 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 2c는 영지버섯추출물 함량이 1%인 버섯유산발효액 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 2d는 영지버섯추출물 함량이 5%인 버섯유산발효액 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 2e는 영지버섯추출물 함량이 10%인 버섯유산발효액 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치 변화를 표시한 그래프.

도 3은 본 발명에 의한 버섯유산발효액 식이에 따른 혈당치 변화와 버섯추출물만의 식이에 따른 혈당치 변화를 표시한 그래프.

#### 【발명의 상세한 설명】

#### 【발명의 목적】

#### 【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<10> 본 발명은 버섯유산발효액 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 혈당 강하에 효과가 있는 버섯유산발효액 및 상기 발효액의 제조방법에 관한 것이다.

<11> 최근 생활수준의 향상과 생활 양식의 변화로 인해 과다한 고칼로리 음식의 섭취로 인한 영양분의 과잉, 운동 부족에 의한 비만, 산업사회의 고도화에 따른 스트레스, 및 의학 발달에 따른 고령화 현상등으로 인해 질병양상도 점점 성인병 위주로 서구화되고 있다. 특히 이러한 성인병 중 당뇨병은 모든 만성혈관질환의 원인이 되고 있으며, 이로 인한 사망률도 점차 증가하는 경향을 보이고 있으므로 국가적으로 심각한 건강장애 질환이 될 것으로 예상되고 있다.

<12> 당뇨병(diabetes mellitus)은 췌장에서 인슐린의 분비부족이나 각 조직에서 인슐린 수용체의 이상으로 인해 나타나는 고혈당이 특징적인 질환이다. 당뇨병은 크게 면역적 장애 등으로 인슐린을 생성 분비하는 췌장  $\beta$  세포가 파괴되어 인슐린이 부족해서 나타나는 인슐린 의존형 당뇨병 (Insulin dependent diabetes

mellitus, 제 1형 당뇨병)과 대부분의 경우에 성인이 된 이후에 유전적으로나 비만 등으로 인해 근육세포 등의 인슐린 수용체에 이상이 생겨 인슐린에 대한 저항이 증가해서 나타나는 인슐린 비의존형 당뇨병 (Non-insulin dependent diabetes mellitus, 제 2형 당뇨병)로 구분되고 있다.

<13> 이러한 당뇨병은 만성질환으로 발병초기와 질병이 진행된 후의 증상이 달라서 인체를 대상으로 연구시 어려움이 많으므로 보통 실험동물에게 streptozotocin, alloxan 등의 약제나 면역반응으로 인슐린 분비를 담당하는 췌장의  $\beta$ -세포를 파괴시켜 실험적 인슐린 의존형 당뇨병을 유발시켜 실제 실험에 이용하고 있다. 최근 당뇨병 개선을 위해 혈당강하 효과를 가진 녹차, 뽕잎, 치커리 뿌리, 울부 등 식물이나 다양한 생리활성 물질의 탐색에 관한 연구가 지속적으로 진행되고 있는데, 이들은 대부분 제1형 당뇨병에 대해 개선효과를 발휘하는 것들이다.

<14> 현재, 당뇨병 환자의 발생유형에서 인슐린 비의존형인 제2형 당뇨병환자의 수가 인구의 노령화와 평균수명의 증가 및 식생활 변화에 의한 비만환자의 증가와 함께 매년 증가 추세에 있고, 우리나라의 경우 당뇨병 환자의 95% 이상이 비의존형인 제 2형 당뇨병 환자이다. 당뇨병 환자의 대부분을 차지하고 있는 인슐린 비의존형 환자들은 질병의 치료를 위해 식이요법과 함께 경구용 혈당강하제를 선별적으로 사용하고 있다. 특히 당뇨병 환자의 식후 혈당강하제로 사용되고 있는 1세대 약품으로 acarbose와 voglibose가 사용되고 있으나 경제적으로 비싼 것이 큰 단점으로 지적되고 있다.

<15> 이러한 문제점을 해결하기 위하여 녹차, 뽕나무, 누에 등 손쉽게 구입이 가능하면서도 식용 가능한 식품이나 다양한 천연물 유래 생리활성 물질에 의한 혈당강화 효과를 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있는데,

<16> 특히, 한국 특허 제 165939호는 구기자 추출물을 함유하는 혈당강하제 조성물 및 구기자 추출물의 제조방법을 개시하고 있으며, 한국 특허 제 195886호는 동충하초, 우황, 서홍화, 황기, 수질, 호장근, 황정, 귀전우, 산수유, 목단피, 지골피, 구기자, 백출, 황출, 황련, 갈근 및 생지황을 함유하는 당뇨병 치료용 의약조성물을 개시하고 있으나, 이들 특허에 나타난 당뇨병 개선을 위한 제제들은 맛이 환자의 식이에 적당하지 않거나 복잡한 제조공정으로 인한 불편함이 여전히 남아 있었다.

<17> 따라서, 제 2형 당뇨병의 치료에 효과가 있으면서도, 환자의 식이에 적당한 식품 조성물에 대한 당업계의 요구가 다수 존재하고 있었다.

#### 【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<18> 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여, 제 2형 당뇨병의 치료에 효과가 있는 동시에, 환자의 식이에 적당한 맛을 가진 버섯유산발효액을 제공하는 것을 목적으로 한다.

<19> 본 발명의 다른 목적은 영양을 공급할 수 있을 뿐만 아니라, 혈당 강하 효과를 나타내는 버섯유산발효액을 제공하는 것이다.



<20> 본 발명의 또 다른 목적은 버섯추출물을 유산 발효 시킴으로써, 버섯이 갖는 약리효과와 유산균의 약리효과의 시너지 효과를 창출하는 버섯유산발효액을 제공하는 것이다.

<21> 본 발명은 또한 상기 버섯유산발효액의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

#### 【발명의 구성 및 작용】

<22> 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 버섯 추출물 0.1 내지 10 중량%와 유산균 배지 90 내지 99.9 중량%를 균질화 한 배양배지를 유산 발효시킨 버섯유산발효액을 제공하는 것을 특징으로 한다.

<23> 본 발명에 의한 버섯유산발효액에서, 상기 유산균 배지는 탈지분유 1-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 덱스트린 0.8-1.5중량%, 및 잔량의 정제수를 포함하는 것이 바람직하다.

<24> 본 발명에 의한 버섯유산발효액은 상기 균질화된 배양배지에 유산균을 상기 배양배지 중량의 1-10 중량% 접종하여 발효시키는 것이 바람직하다.

<25> 본 발명의 버섯유산발효액에서 사용되는 상기 버섯추출물은 영지버섯의 수용성추출물인 것이 바람직하다.

<26> 본 발명에 의한 버섯유산발효액은 혈당치 저하에 유효한 성분을 포함하는 것을 특징으로 한다.

<27> 또한 본 발명은 버섯과 추출용제를 1:10의 중량비로 하여 고압멸균기에서 약 100℃ 이하의 중·저온에서 1회 추출하여 추출액을 여과 한 후, 다시 추출용제

를 최초의 중량만큼 가하여 약 121℃ 이상의 고온에서 2회 추출하여 여과함으로써 버섯추출물을 준비하는 단계; 탈지분유 1-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 텍스트린 0.8-1.5중량%, 및 잔량의 정제수를 균질화하여 유산균 배지를 준비하는 단계; 상기 버섯추출물을 상기 유산균 배지에 첨가하여 균질화하는 단계; 상기 균질화된 버섯추출물 함유 유산균 배지에 유산균 균주를 접종하여, 배양하고 숙성하는 단계를 포함하는 버섯유산발효액 제조방법을 특징으로 한다.

<28> 본 발명의 버섯유산발효 조성물 제조방법에서 상기 유산균 균주가 접종된 배양배지는 약 35-40℃의 항온기에서 10-20시간 발효시키고, 약 4℃에서 12시간 정도 숙성하는 것이 바람직하다.

<29> 또한, 본 발명의 버섯유산발효 조성물 제조방법에서 사용되는 버섯은 영귀버섯인 것이 바람직하다.

<30> 이하, 본 발명에 의한 버섯유산발효액을 보다 상세히 설명하면 다음과 같다.

<31> 먼저, 버섯은 식용버섯(食用 edible mushrooms), 약용버섯(藥用 medicinal mushrooms), 독버섯(毒 Poisonous Mushrooms) 등으로 크게 3가지로 나눌 수 있는데, 식용 버섯은 70-95%의 수분과 5-30%의 유기 및 무기 성분으로 되어 있는데, 건조시킨 버섯은 15-30% 정도의 단백질, 2-10%의 지방과 50% 안팎의 가용성 무기물이 들어 있고 5-10%의 조지방과 갈탄, 인산, 죄분 등이 함유되어 있다. 일반적으로 맛이 좋은 식용 버섯에는 아미노산, 마니트, 트레할로오스 등이 많이 있으며 그밖에 비타민 B2와 D의 전구체인 에르고스테린 같은 여러 비타민류와 효소도 들어 있다고 알려져 있다.

<32> 또한, 최근 버섯은 항암 효과, 항변이원성 효과, 혈청 지질저하 효과, 면역증강 효과 등 노화억제 및 성인병 예방과 치료에 효험이 있는 것으로 알려지면서 식용뿐만 아니라 약용으로 그 이용성이 날로 증대하고 있는데, 이러한 생리활성이 기대되는 버섯류에는 영지, 표고, 느타리, 상황, 아가리쿠스, 먹물, 목이 및 석이 등의 식용 및 약용 버섯류가 알려져 있다. 특히 영지버섯의 약효성분으로 열수 추출액에 함유되어 있는 다당류와 단백질 복합체인 polysaccharide protein complex가 보고된 바 있으며, 암세포 생육 억제, 본태성 고혈압 치료, 과산화지질 생성 억제 효과 등이 보고된 바 있다. 식용으로 널리 이용되고 있는 표고버섯에는 항암작용, 콜레스테롤 저하작용, 강장, 이뇨, 고혈압, 신장염, 천식, 위궤양 등의 치료에도 효능이 있어 약용으로도 널리 이용되고 있으며, 표고버섯 열수 추출물은 혈청 및 간장의 지질 저하 작용 및 간손상 억제 작용이 보고된 바 있다. 또한, 느타리버섯의 다당류 추출물은 혈청 콜레스테롤 저하효과 및 사염화탄소 유발 간손상 억제작용과 느타리버섯 자실체 및 균사체 추출물의 항산화효과가 있는 것으로 보고된 바 있다.

<33> 한편, 유산균에 속하는 세균으로서인 연쇄상 구균, 테티오코카스, 류코노스톡, 유산간균, 비피더스균등 수집중에 달하고 있다. 유산균은 사람이나 동물의 소화관이나 수집종의 농산물에 이르기까지 자연계에 널리 분포되어 있으며, 요구르트제조에는 라크티아균, 요구르트균, 스트렙토코커스균이 사용되고, 유산균음료 제조에는 요구르트균, 카제이균, 애시도 필러스균등이 사용되며, 치즈의 제조에는 카제이균, 크레프리스균, 헤베리키스균, 유(乳)연쇄상구균이 사용되고, 발효버터

에도 유연쇄상구균이 사용됨으로써 각각 특징 있는 제품이 만들어진다. 이와 같이 식품 가공과정에서 각각 제조하는데 정해진 종류의 유산균이 관계되고 있다.

<34> 유산균은 장내 상피세포에 부착하여 대사 활동을 하여 유산, 지방산(적균), 항생물질(bacteriocin),  $H_2O_2$  등을 분비하여 유해균을 억제하며, 유산균 발효로 생성되는 HMG(Hydroxy Methyl Glutaric), Orotic Acid, Uric Acid 등에 의한 콜레스테롤 생성이 저해되고, 특히 락토바실러스 애시도필러스(유산균의 일종)는 직접 콜레스테롤을 분해한다. 또한 유산균은 면역계에서 병원균을 감지하는 마이크로파아지 활성화를 통해 세균, 바이러스의 신속한 감지, 임파구 분열 촉진으로 인한 암세포 증식 방지, 혈액내의 항체인 Ig A의 생산을 증가시키고, 감마-인터페론 생성을 증강하여 면역력을 증진할 뿐만 아니라, 음식물의 영양학적 가치를 증진시키고, 내인성 감염을 억제하는 작용을 하며, 장내의 발암물질 생성 유해균의 생육억제 및 사멸을 유도하여 항암작용 등을 한다.

<35> 따라서 본 출원인은 이러한 다양한 생리활성 기능을 가진 버섯 및 유산균이 가진 별개의 기능성을 증대시킬 뿐만 아니라, 둘 중 어느 하나로서는 얻지 못하는 시너지적 기능성을 얻기 위해, 버섯과 유산균을 동시에 이용한 조성물을 발명하여, 2001년 05월 07일자로 특허출원번호 제 10-2001-0024513호로 이미 출원한 바 있는데, 이러한 버섯과 유산균의 시너지 효과에 착안하여 본 출원인이 계속적으로 연구한 결과, 본출원인 이외의 출원인 제 2명 당국명 환자의 필명자 이하에 유한 본 발명의 조성물을 개발하였다.

<36> 본 발명에서 사용되는 버섯추출물은 영지버섯의 수용성 추출물로서, 영지버섯과 증류수의 중량비를 약 1: 10으로 하여 고압멸균기를 사용하여 약 100℃ 이

하의 중·저온에서 1시간 추출하여 추출액을 여과 한 후, 다시 증류수를 최초 사용한 중량과 동일하게 가하고 약 121℃ 이상의 고온에서 1시간 추출하여 여과하여 사용한다. 여기서 추출온도의 차이를 두는 것은 약리성을 가지는 물질의 파괴를 줄이려는 목적이 있다.

<37> 또한, 본 발명에서 사용되는 유산균 배지는 탈지분유 1-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 덱스트린 0.8-1.5중량%, 및 잔량의 정제수를 포함하도록 준비하는데, 기타 유산균의 성장 또는 맛의 향상에 유효한 다른성분을 더 포함할 수 있다.

<38> 아울러, 본 발명에서 사용되는 유산균은 카제이균, 비피더스균, 애시도필러스균, 서모필러스균, 불가리아균, 요쿠르트균, 애시도 필러스균 등이 사용될 수 있다.

<39> 이하에서는 본 발명의 고유한 특성 및 수행하는 방법을 더 잘 기술하기 위해, 실시예가 기술된다. 그러나, 본 발명이 실시예의 상세한 기술에 의해 제한되는 것으로 고려되어서는 안 된다.

<40> 제조예: 영지버섯추출물의 제조

<41> 영지버섯 100g에 증류수 1000ml(시료가 10%가 되게)를 넣어 고압멸균기를 사용하여 약 100℃ 이하의 중·저온에서 1시간 추출하고 추출액을 여과 한 후 다시 증류수를 1000ml가하여 약 121℃ 이상의 고온에서 1시간 추출하여 여과한다.

<42> 비교예1

<43> 탈기분유 8중량%, 올리고당 10중량%, 덱스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배지에, 상기 유산균배지 중량의 0.01%의 상기 제조예에서 제조된 영지버섯추출물을 첨가하여 균질화시킨 후, 상기 균질화된 조성물 중량의 3%의 락토바실러스 불가리쿠스를 접종하고 약 35-40℃ 바람직하게는 37℃의 항온기에서 10-20시간 바람직하게는 약 12시간 발효시킨 후, 약 4℃에서 냉장보관하며 약 12시간 정도 숙성시킨다.

<44> 실시예1

<45> 탈기분유 8중량%, 올리고당 10중량%, 덱스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배지에, 상기 유산균배지 중량의 0.1%의 상기 제조예에서 제조된 영지버섯추출물을 첨가하여 균질화시킨 후, 상기 균질화된 조성물 중량의 3%의 락토바실러스 불가리쿠스를 접종하고 약 35-40℃ 바람직하게는 37℃의 항온기에서 10-20시간 바람직하게는 약 12시간 발효시킨 후, 약 4℃에서 냉장보관하며 약 12시간 정도 숙성시킨다.

<46> 실시예2

<47> 탈기분유 8중량%, 올리고당 10중량%, 덱스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배지에, 상기 유산균배지 중량의 0.5%의 상기 제조예에서 제조된 영지버섯추출물을 첨가하여 균질화시킨 후, 상기 균질화된 조성물 중량의 3%의 락토바실러스 불가리쿠스를 접종하고 약 35-40℃ 바람직하게는 37℃의 항온기에

서 10-20시간 바람직하게는 약 12시간 발효시킨 후, 약 4℃에서 냉장보관하며 약 12시간 정도 숙성시킨다.

<48> 실시예3

<49> 탈지분유 8중량%, 올리고당 10중량%, 덱스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배지에, 상기 유산균배지 중량의 2%의 상기 제조예에서 제조된 영지버섯추출물을 첨가하여 균질화시킨 후, 상기 균질화된 조성물 중량의 3%의 락토바실러스 불가리쿠스를 접종하고 약 35-40℃ 바람직하게는 37℃의 항온기에서 10-20시간 바람직하게는 약 12시간 발효시킨 후, 약 4℃에서 냉장보관하며 약 12시간 정도 숙성시킨다.

<50> 실시예4

<51> 탈지분유 8중량%, 올리고당 10중량%, 덱스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배지에, 상기 유산균배지 중량의 5%의 상기 제조예에서 제조된 영지버섯추출물을 첨가하여 균질화시킨 후, 상기 균질화된 조성물 중량의 3%의 락토바실러스 불가리쿠스를 접종하고 약 35-40℃ 바람직하게는 37℃의 항온기에서 10-20시간 바람직하게는 약 12시간 발효시킨 후, 약 4℃에서 냉장보관하며 약 12시간 정도 숙성시킨다.

<52> 비교예 2

<53> 탈지분유 8중량%, 올리고당 10중량%, 덱스트린 1중량% 및 정제수 잔량을 포함하는 유산균배지에, 상기 유산균배지 중량의 10%의 상기 제조예에서 제조된 영지버섯추출물을 첨가하여 균질화시킨 후, 상기 균질화된 조성물 중량의 3%의 락토바실러스 불가리쿠스를 접종하고 약 35-40℃ 바람직하게는 37℃의 항온기에서 10-20시간 바람직하게는 약 12시간 발효시킨 후, 약 4℃에서 냉장보관하며 약 12시간 정도 숙성시킨다.

<54> 실험예 1

<55> 버섯유산발효액의 혈당강하효과

<56> 버섯유산발효액이 혈당강하에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 당뇨병 환자들을 대상으로 하기와 같이 실험하였다.

<57> 먼저, 대조군의 환자군으로 평균 315 mg/dL(n=10)의 고혈당을 가지는 성인 남자(25세 ~ 67세, 평균연령 45세) 10인을 선별하여, 3주간 정상식으로 섭취시키고, 아침 식전 7시에 혈당을 측정한 결과, 하기의 표 1 및 그래프 1a와 같이 1주째 304 mg/dL(n=10), 2주째 312 mg/dL(n=10), 3주째 319 mg/dL(n=10)로 비슷한 수준을 유지하였다.



## &lt;58&gt; 【표 1】

대조군인 당뇨병환자의 혈당치 변화(단위: mg/dL)

날짜 환자	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
1	342	279	224	275	262	371	197	246	299	303	307
2	295	324	333	287	288	350	401	370	368	362	355
3	378	410	420	387	195	394	338	382	442	351	400
4	254	382	358	299	308	412	382	172	302	296	289
5	324	192	392	373	392	158	381	254	325	285	244
6	313	386	354	411	205	334	309	384	312	306	299
7	312	152	282	201	290	89	342	134	207	281	354
8	321	358	291	198	311	349	299	395	254	322	390
9	310	200	293	254	165	201	257	398	289	271	253
10	300	389	402	352	300	299	380	388	352	327	301

<59>      요쿠르트 식이군은 통상적으로 제조된 요쿠르트를 사용하여, 설탕이 2% 첨가된 관계로 혈당치가 증가되는 현상을 보일 수 있어, 처음부터 혈당치가 낮은 환자를 선택하여 5주간 정상 식이에 더하여 하루 200g씩 섭취시키고, 아침 식전에 혈당치를 측정한 결과, 하기의 표 2 및 그래프 1b와 같이, 1주째 262 mg/dL(n=9), 2주째 315 mg/dL(n=7), 3주째 355 mg/dL(n=6)으로 꾸준히 증가한 것으로 나타나 요쿠르트만을 섭취시켰을 경우에는 요쿠르트에 함유된 2%의 설탕을 감안하더라도, 혈당강하 효과가 있다할 수 없는 것으로 인정되었다. 이때 시간의 경과에 따라 환자수가 감소하는 것은 적어도 400 mg/dL 정도의 고혈당이 초래되어 약물치료가 요구되었기 때문에 제외시킨 결과이다

## &lt;60&gt; 【표 2】

요구르트 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치의 변화(단위: mg/dL)

환자	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
1	115	124	109	139	160	228	219	301	340	346	352
2	180	175	198	242	270	292	354	347	395	404	412
3	200	254	380								
4	133	135	124	178	141	185	152	173	195	192	189
5	225	240	290	370	423						
6	192	209	284	319	325	398	425	387			
7	240	290	317	325	354	349	402	372	386	392	398
8	128	119	145	130	135	217	249	299	284	317	350
9	219	260	292	343	392	417	449				
10	208	218	240	315	342	379	315	328	427	429	430

<61> 영지버섯으로부터 수용성 추출물을 얻어 유산균 배지에 상기 배지 전체 중량의 2% 수준으로 첨가하여 만든 버섯유산발효액(실시예 3)을 대조군과 같은 수준의 고혈당 즉 평균 혈당치가 321 mg/dL(n=10)인 당뇨병 환자 10명에 대해, 3주간 정상 식이에 더하여 본 발명의 버섯유산발효액(실시예4에 의해 제조됨)을 하루 200g을 섭취시키고, 아침 식전 7시에 혈당치를 측정 한 결과,

<62> 하기의 표 3 및 그래프 1c와 같이 1주째는 207 mg/dL(n=10)로 감소되었고, 2주째는 166 mg/dL(n=10)로, 3주 째는 150 mg/dL(n=10)로 꾸준히 감소되었다. 정상인의 공복식 혈당치의 평균치는 약 100 mg/dL으로 본 실험의 당뇨병 환자 10명중 비교적 고혈당인 310 및 219 mg/dL 2명을 제외한 8명의 혈당 평균치가 121 mg/dL(n=8)로 정상인 혈당 수준으로 떨어졌으며, 이들 환자 중에서 혈당치가 빠르면 3일째부터 123 mg/dL까지 떨어졌음을 알 수 있다

<63> 이러한 실험 결과로부터, 본 발명에 의한 버섯유산발효액이 혈당강화에 유 의한 효과를 갖는 것을 알 수 있다.

64. 【표 3】

버섯유산발효액 식이군인 당뇨병 환자의 혈당치의 변화(단위: mg/dL)

환자	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
1	342	302	224	295	328	245	201	175	158	142	125
2	295	314	287	254	220	186	195	143	115	113	110
3	405	398	309	253	410	357	231	324	243	447	310
4	292	275	251	269	224	220	228	219	124	141	158
5	215	187	250	149	148	177	136	200	145	134	122
6	400	322	254	159	217	208	178	125	167	158	149
7	338	275	199	228	145	155	101	75	98	99	99
8	216	158	131	69	147	111	92	108	125	114	103
9	295	289	123	118	101	92	97	95	99	100	101
10	411	408	375	275	303	123	298	199	182	244	219

65. 실험예 2

66. 혈당강화에 유효한 버섯추출물의 함량

67. 버섯 추출물의 첨가 적정량을 결정하기 위하여 상술한 비교예 1, 실시예 1, 2, 4 및 비교예 2와 같이 0.01%, 0.1%, 0.5%, 5% 및 10% 수준에서 첨가하여 제조한 버섯유산발효액을 각 실험군당 3명을 대상으로 실시한 결과, 하기의 표 4 및 그래프 2a, 2b, 2c, 2d 및 2e와 같이, 저농도인 0.01%에서 0.5%까지는 큰 효과를 발휘하지 못하였으나, 0.1%부터는 혈당치가 증가되지 않는 것으로 보아 버섯유산발효액의 약리적 효과가 나타나기 시작하는 최저 농도수준으로 판단되며, 5% 수준에서 뛰어난 효과를 발휘하였고, 10% 수준에서는 오히려 저혈당을 초래하는 것으로 매일 계속적으로 먹기에는 부적합한 농도로 판단되므로, 최종 적정량은 0.1% ~ 7% 수준으로 하루 200g 음용이 적정량으로 판단되었으나, 성별, 연령, 체중, 당뇨병의 정도에 따라 달라질 수 있다.

## &lt;68&gt; 【표 4】

영지버섯주출물의 함량을 달리한 버섯유산조성물에 의한 당뇨병 환자의 혈당치 변화 (단위: mg/dL)

담자 함량/ 환자	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
0.01%	1	212	219	230	299	372	402				
	2	107	109	101	98	123	108	127	92	99	104
	3	240	279	288	342	319	380	372	399		
0.1%	1	244	259	210	149	232	300	198	212	201	211
	2	295	212	302	318	242	115	89	198	242	271
	3	192	200	114	75	221	208	182	191	180	167
0.5%	1	288	271	249	262	199	190	175	294	205	177
	2	314	324	295	270	222	142	157	140	131	126
	3	329	245	279	244	309	300	223	258	249	274
5%	1	450	430	375	330	250	189	114	79	92	96
	2	387	301	254	199	125	100	69	72	89	86
	3	394	412	321	249	199	101	82	93	95	92
10%	1	324	201	115	99	75	65				
	2	455	437	315	290	142	89	94	115	99	117
	3	400	399	387	300	224	202	103	140	109	90

<69> 이상의 연구에서 일부 당뇨병 환자를 제외하고 대부분(약 80%)의 제 2형 당뇨병 환자에게 본 발명에 의한 버섯유산발효액의 꾸준한 섭취는 혈당치를 정상인 수준으로 유지시킬 수 있는데 유용한 조성물이다.

## &lt;70&gt; 실험예 3

<71> 혈당강화에 미치는 버섯주출물과 유산균의 시너지 효과

<72> 상술한 실험에서 나타난 당뇨병 환자의 혈당치 감소가 버섯 주출물의 효과인지 유산균을 이용하여 버섯주출물을 발효시킴으로써 얻어진 시너지효과인지를 확인하기 위해 당뇨병 환자에게 본 발명에 따른 버섯유산발효액과 버섯주출액을 서로 연속적으로 섭취하면서 혈당치를 측정하였다.

<73> 식이에 사용된 시료는 상술한 제조예에서 제조된 영지버섯추출물을 사용하였고, 버섯유산발효액은 상술한 실시예와 동일하게 제조하여 사용하였다. 버섯유산발효액과 버섯 추출액기스의 식이는 아침 식사 전 혈당치를 측정 한 후에 하였고, 저녁의 경우에도 식사 전에 식이를 하도록 하였다. 혈당치의 측정은 아침 7시, 2일 간격으로 실시하였다.

<74> 실험진 환자의 평균적인 혈당치는 300(mg/dL) 정도에서 변동이 있는 41세의 남자 환자로 발병은 2000년 11월에 진단을 받았으며 발병초기의 혈당치는 420(mg/dL) 정도로 매우 높았다. 그 후 당뇨병 약으로 300(mg/dL) 정도로 유지하고 있는 상태였다. 실험은 2001년 6월 1일부터 2001년 7월 30일 까지 60일간 실시하였다.

<75> 실험방법은 먼저, 버섯 추출물을 2%로 하여 제조한 실시예 3의 버섯유산발효액을 환자에게 36일간 식이하고 6일간 식이를 중지하여, 혈당치가 상승한 이후, 버섯유산발효액에 첨가된 량과 같은 농도의 버섯추출물만을 환자에게 식이 하도록 실시하였다.

<76> 본 실험의 결과 버섯유산발효액을 식이 했을 경우 하기의 표 5와 같이 환자의 혈당치는 10일 동안 급격히 떨어졌고 그 후에는 100(mg/dL) 부근에서 20여일 동안 안정되었다. 그리고 식이를 중지했을 때 바로 혈당치가 276(mg/dL)로 증가되었다. 또한, 같은 량의 버섯 추출물을 식이시킨 경우에는 하기의 표 5와 같이 혈당치는 감소되었으나 버섯유산발효액만큼 빠른 속도는 아니었으며 시간이 경과될수록 혈당치의 감소치는 줄어들어 10일 정도 식이를 했을 때 혈당치의 변화는 거의 없었다. 이후에는 더 이상의 혈당 감소는 나타나지 않았다.

## &lt;77&gt; 【표 5】

버섯유산발효액과 버섯추출물식이에 따른 혈당치 변화(단위: mg/dL)

날짜(일)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36
버섯유산발효액 식이에 따른 혈당치	302	247	203	161	147	105	95	99	101	104	89	106	107	94	103	99	92	98	96
날짜(일)	38	40	42																
식이 중단에 따른 혈당치	107	202	276																
날짜(일)	44	46	48		50	52	54			56	58	60							
버섯추출물 식이에 따른 혈당치	233	213	182		178	170	174			168	179	171							

<78> 이상의 실험 결과로부터 영지버섯은 이미 알려진 바와 같이, 그 자체로도 혈당치를 감소시키는 효과는 있는 것으로 확인되었으나, 본 발명에 의한 버섯유산발효액보다 혈당치가 감소되는 속도가 늦었을 뿐만 아니라, 본 발명의 버섯유산발효액만큼 감소되지 않았다. 이것으로부터 혈당강화에 미치는 버섯추출물과 유산균의 시너지효과를 확인할 수 있을 뿐만 아니라, 본 발명의 버섯유산발효액에는 버섯추출물에는 없는 다른 혈당치를 감소시키는 요인이 있는 것을 알 수 있었다.

## 【발명의 효과】

<79> 본 발명에 따른 버섯발효추출물은 유산균과 버섯의 약리효과를 상승시키는 시너지 작용에 의해, 당뇨병 환자의 혈당치를 낮추거나 인슐린 비의존성 당뇨병의 예방 및 치료에 현저한 효과가 있다.

<80> 또한, 본 발명에 따른 버섯발효조성물은 영지버섯의 독특한 맛으로 인한 환자의 거부감을 줄이고, 식이에 적당한 맛을 가진 버섯유산발효액을 제공하여, 환자가 약이 아니라 음식으로서 즐길 수 있게 하는 효과가 있다.

**【특허 청구범위】****【청구항 1】**

버섯 추출물 0.1 내지 10 중량%와 유산균 배지 90 내지 99.9 중량%를 균질화 한 배양배지를 유산 발효시켜 제조되는 버섯유산발효액.

**【청구항 2】**

제 1항에 있어서, 상기 유산균 배지는 탈지분유 1-20중량%, 올리고당 8-15 중량%, 덱스트린 0.8-1.5중량%, 및 잔량의 정제수를 포함하는 버섯유산발효액.

**【청구항 3】**

제 1항에 있어서, 상기 균질화된 배양배지에 유산균을 상기 배양배지중량의 1-10%로 접종하여 발효시킨 버섯유산발효액.

**【청구항 4】**

제 1항에 있어서, 상기 버섯추출물은 영지버섯의 수용성추출물인 버섯유산발효액.

**【청구항 5】**

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 버섯유산발효액은 혈당지 적하에 유효한 성분을 포함하는 버섯유산발효액.

**【청구항 6】**

버섯과 추출용 재를 1:10의 중량비로 하여 고압멸균기에서 약 100℃ 이하의 중 저온에서 1회 추출하여 추출액을 여과 한 후, 다시 추출용 재를 최초의 중량만



를 가하여 약 121℃ 이상의 고온에서 2회 추출하여 여과함으로써 버섯추출물을 준비하는 단계;

탈지분유 1-20중량%, 올리고당 8-15중량%, 텍스트린 0.8-1.5중량%, 및 잔량의 정계수를 균질화하여 유산균 배지를 준비하는 단계;

상기 버섯추출물을 상기 유산균 배지에 첨가하여 균질화 하는 단계;

상기 균질화된 버섯추출물 함유 유산균 배지에 유산균 균주를 접종하는 단계를 포함하는 버섯유산발효액 제조방법.

#### 【청구항 7】

제 6항에 있어서, 상기 균질화된 버섯추출물 함유 유산균 배지에 유산균을 접종하기 전에 가열 살균하는 단계 및,

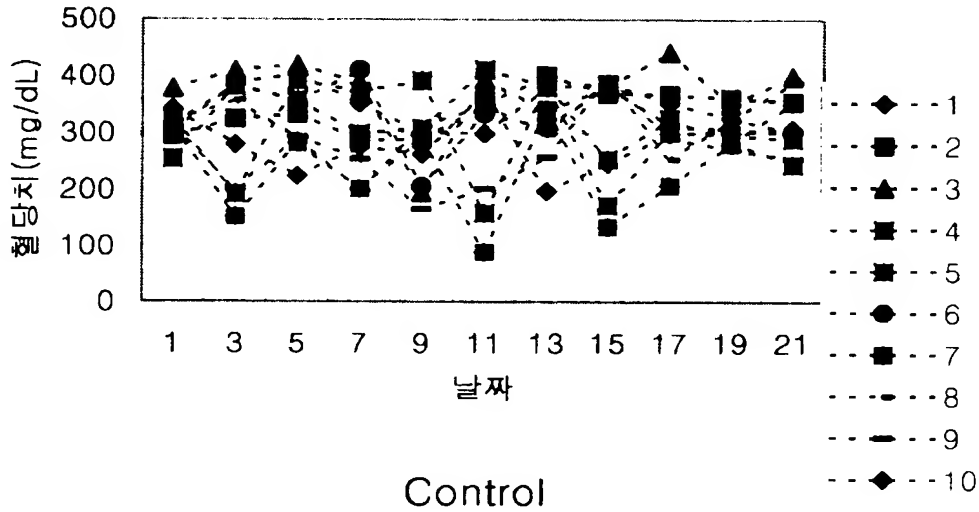
상기 유산균 균주 접종 후, 35-40℃의 항온기에서 10-20시간 발효시키고, 4℃에서 12시간동안 숙성하는 단계를 더 포함하는 버섯유산발효액의 제조방법.

#### 【청구항 8】

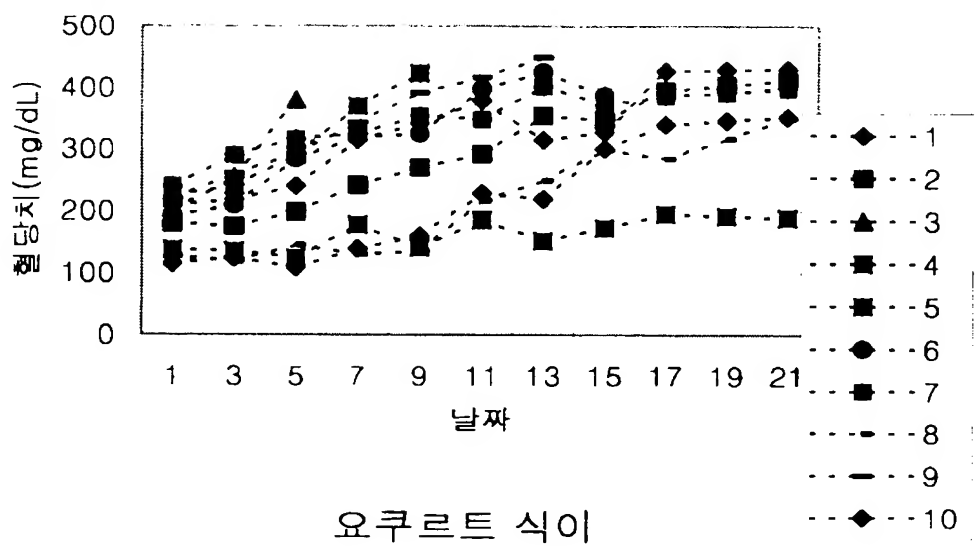
제 6항 또는 제 7항에 있어서, 상기 버섯추출물 준비단계에서 사용되는 버섯은 영기버섯인 버섯유산발효액의 제조방법.

【도면】

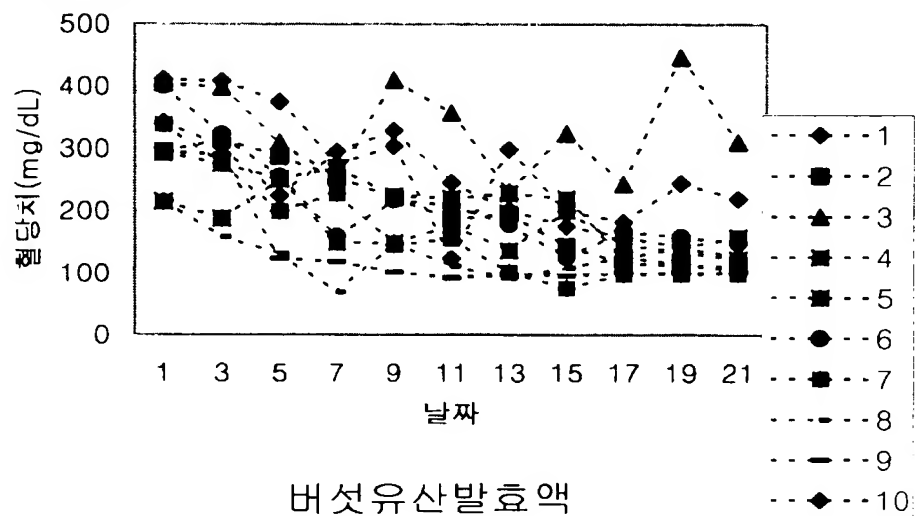
【도 1a】



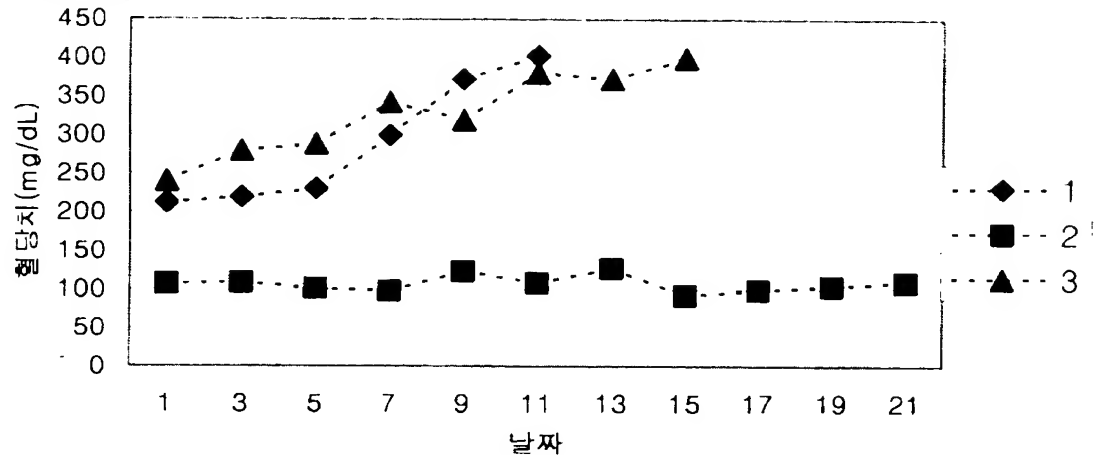
【도 1b】



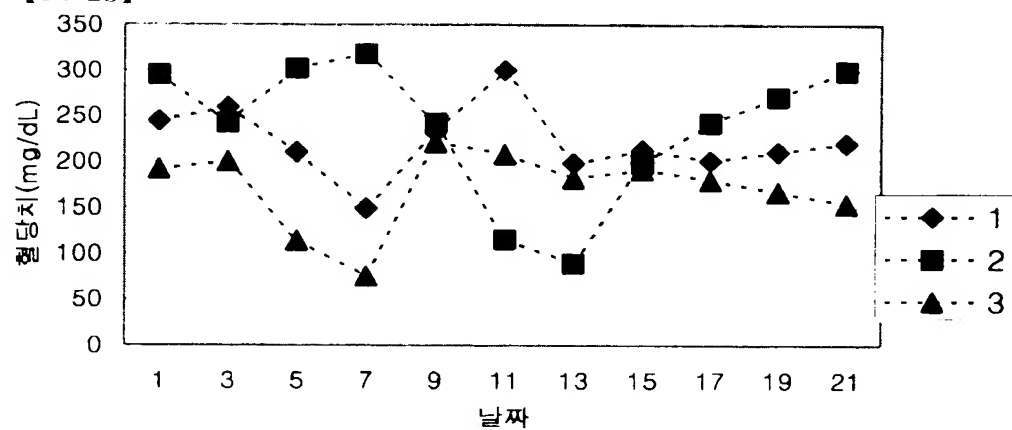
【도 1c】



【도 2a】

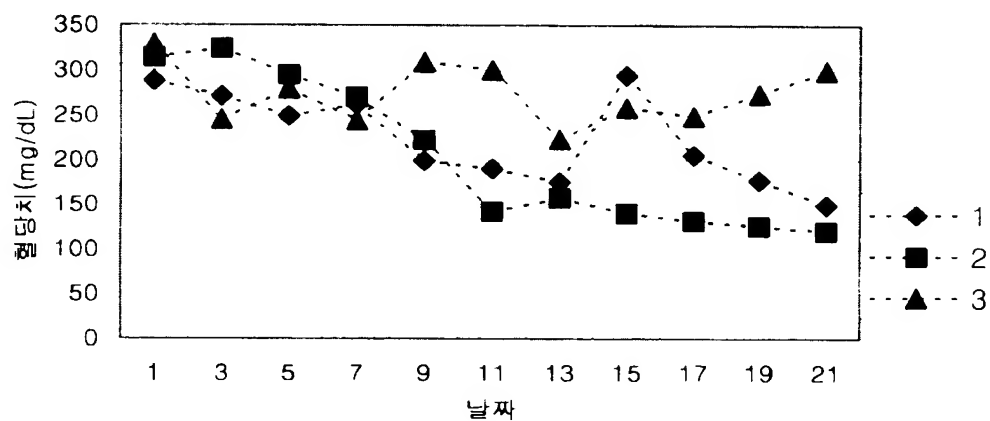


【도 2b】



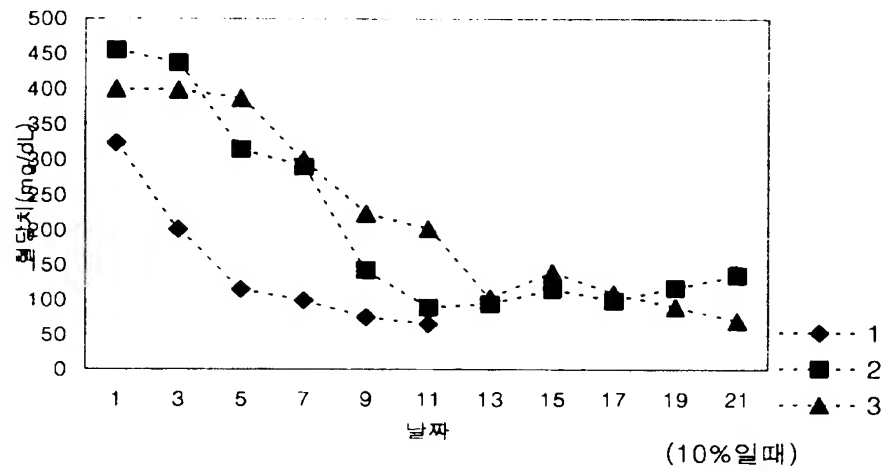
(농도0.1%)

【도 2c】

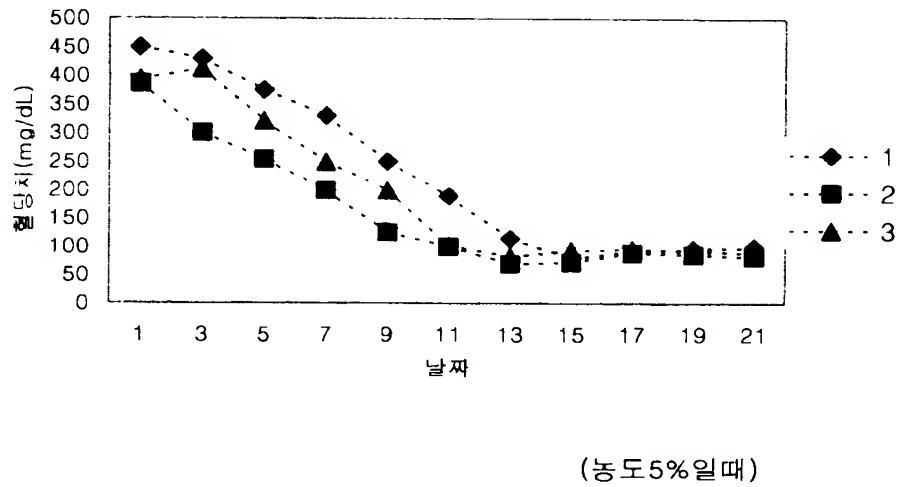


(농도0.5%)

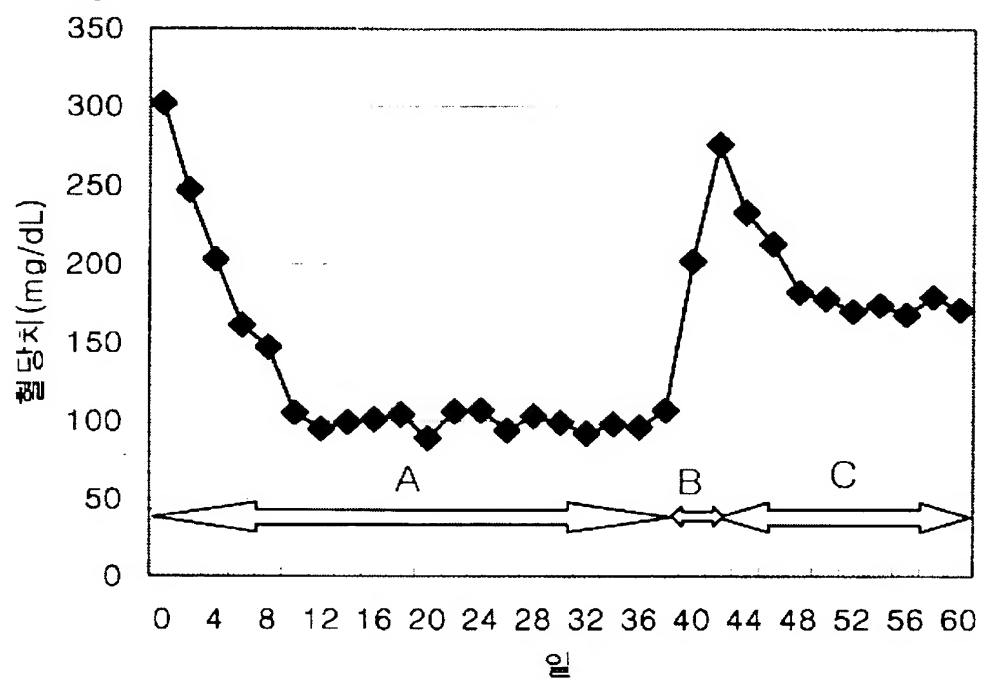
【도 2d】



【도 2e】



【도 3】



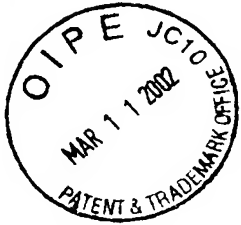
A: 2% 버섯유산발효액 식이 (0-36일)

B: 식이 중지 (37-42일)

C: 버섯 추출물 식이 (43-60일)

대한민국 특허청  
KOREAN INTELLECTUAL  
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.



This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

출원번호 : 특허출원 2001년 제 73033 호  
Application Number PATENT-2001-0073033

출원년월일 : 2001년 11월 22일  
Date of Application NOV 22, 2001

출원인 : 주식회사 바이오허브  
Applicant(s) BIOHUB CO., LTD.

2001      년    12      월    21      일

특      허      청      장  
COMMISSIONER

## 【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2001. 11. 22
【발명의 명칭】	버섯유산발효액의 제조방법 및 상기 제조방법에 의해 제조된 버섯유산발효액
【발명의 영문명칭】	THE METHOD OF MANUFACTURING A MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTED SOLUTION AND THE SOLUTION MANUFACTURED THEREBY
【출원인】	
【명칭】	주식회사 바이오허브
【출원인코드】	1-2001-035544-1
【대리인】	
【성명】	조현석
【대리인코드】	9-1998-000547-9
【포괄위임등록번호】	2001-051760-5
【대리인】	
【성명】	김항래
【대리인코드】	9-1999-000315-2
【포괄위임등록번호】	2001-051761-2
【발명자】	
【성명】	김범규
【출원인코드】	4-2000-026396-2
【발명자】	
【성명】	신갑근
【출원인코드】	4-1999-047849-3
【발명자】	
【성명의 국문표기】	차재영
【성명의 영문표기】	CHA, Jae Young
【주민등록번호】	620808-1920915
【우편번호】	616-093
【주소】	부산광역시 북구 구포3동 816-23번지 서동빌라 나동 202호
【국적】	KR



## 【발명자】

【성명】

전병삼

【출원인코드】

4-2001-017409-8

## 【발명자】

【성명의 국문표기】

배동원

【성명의 영문표기】

BAE, Dong Won

【주민등록번호】

670422-1905826

【우편번호】

660-100

【주소】

경상남도 진주시 신안동 708-1 신안주공1차아파트  
104동 502호

【국적】

KR

## 【심사청구】

청구

## 【취지】

특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인  
조현석 (인) 대리인  
김항래 (인)

## 【수수료】

【기본출원료】

20 면 29,000 원

【가산출원료】

4 면 4,000 원

【우선권주장료】

0 건 0 원

【심사청구료】

8 항 365,000 원

【합계】

398,000 원

## 【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)\_1통

## 【요약서】

## 【요약】

본 발명은 냉장 보관된 유산균 균주를 그대로 접종하는 것이 아니라 일정한 방법으로 가열 처리하는 단계를 거침으로써 접종된 균주의 배양시간을 단축시켜 건강에 유익하고 체중감량 효과가 있으며 맛과 기호성이 우수한 효과가 있는 버섯유산발효액을 신속하게 제조할 수 있는 제조방법 및 상기 제조방법에 의해 제조된 버섯유산발효액에 관한 것이다. 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 버섯유산발효액은 항종양활성, 항콜레스테롤 작용, 혈당강하 작용, 혈압강하 작용, 항혈전 작용, 항균작용, 항바이러스 작용, 강심작용, 정장작용 등의 우수한 약리 효과가 있다.

## 【대표도】

도 1

**【명세서】****【발명의 명칭】**

버섯유산발효액의 제조방법 및 상기 제조방법에 의해 제조된 버섯유산발효액  
{THE METHOD OF MANUFACTURING A MUSHROOM LACTIC ACID FERMENTED SOLUTION AND  
THE SOLUTION MANUFACTURED THEREBY}

**【도면의 간단한 설명】**

도 1은 본 발명의 버섯유산발효액의 제조방법을 나타낸 개략도.

도 2는 영지버섯 자실체 건조분말 0.1%와 추출물 5.0%(W/W)를 각각 첨가하여 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*)로 발효시킨 요구르트의 유산생성율을 나타낸 그래프.

도 3a ~ 3c는 유동학(rheology)에 대한 영지버섯 건조분말과 추출물의 농도별 정도, 브레이킹 에너지(breaking energy) 및 탄성분자의 효과를 나타낸 그래프.

**【발명의 상세한 설명】****【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<1> 본 발명은 버섯을 이용한 유산발효액의 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 발효시간을 단축시켜 건강에 유익하고 체중감량 효과가 있으며 맛과 기호성이 우수한 효과가 있는 버섯유산발효액을 신속하게 제조할 수 있는 제조방법 및 상기 제조방법에 의해 제조된 버섯유산발효액에 관한 것이다.

<5> 일반적으로 버섯은 지방성분이 적고 당질 또는 단백질이 풍부한 식품이다. 버섯에 포함된 당질은 트로할로즈, 만니톨, 아라비노즈 등 사람의 장관에서 흡수 이용되기 어려운 저분자당과 함께 다당류 즉 불소화성의 소위 식품섬유가 주체이다. 따라서 식품분석에 의한 계산치보다 매우 낮은 칼로리 소재라 할 수 있다. 더욱이 에르고스테롤, 칼슘 섭취촉진은 100 ~ 800mg이 보편적으로 함유되어 있어 열에 의해 건조되면 비타민 D<sub>2</sub>로 변한다. 이외에 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, 나이아신을 함유하고 비타민 A나 C는 거의 함유되어 있지 않다. 미네랄로서는 Na에 비하여 K가 상당히 많고 그 다음이 P, Ca, Fe 등의 순서이다. 또한, 버섯의 향미성분은 핵산물질이 주체가 되고 이것에 글루타민산, 호박산, 능금산 및 유리당 등의 조합에 의하여 이루어진다. 그러므로, 버섯은 식품학적 입장에서는 칼로리 중실의 식품이 아니라 향기, 맛, 조직감이 있는 특수기호성을 가진 생리조절 기능성 식품이라 할 수 있다.

<6> 그런데, 버섯은 향미가 좋고 영양가가 풍부하나 수분이나 질소화합물의 ??량이 많아 변질되기 쉽게 조직이 연하여 미생물의 번식이 용이하여 수확 후 저장 수명이 매우 짧다. 그러므로 버섯류는 생버섯 내지 건조한 상태에서 유통하여 식탁에서 반찬으로나 음식을 조리하는 데에 향미를 더하는 보조 첨가재료로서 1차적인 영양공급원으로서만 주로 이용되어 왔다.

<7> 그러나 급속한 경제성장과 더불어 식생활 수준의 향상으로 소비자들의 다양한 요구에 따라 식품이 가지는 기능성에 관심을 가지게 되고 건강식품으로 향미 성분과 약리효과 때문에 식용으로, 약용으로 애용되어 오던 버섯류를 일상에서 즐기는 기호식품으로 개발할 필요성이 있었다. 이러한 시장의 요구에 부응하여

최근 시중에는 버섯의 특성을 이용하여 버섯음료, 버섯김치, 버섯과자까지 개발된 바 있다.

<8> 한편, 최근 건강에 대한 소비자의 관심이 높아짐에 따라 요구르트 같은 유산발효액이 정장작용의 약리효과로 사람들에게 사랑을 받고 기호식품뿐만 아니라 장수식품으로 인식됨에 따라 탄산요구르트, 냉동요구르트 등 다양한 형태의 요구르트가 개발되고 있으며 최근에는 요구르트가 과일의 독특한 맛을 나타내는 쪽으로 개발되고 있다.

<9> 이에 본 출원인은 버섯과 유산발효액이 인체에 미치는 우수한 약리효과에 착안하여, 버섯과 유산발효액을 동시에 이용함으로써 양자의 약리효과를 상승시키려는 의도를 가지고 연구 개발한 결과, 버섯을 포함한 식품이 영양가가 높은 것만으로 좋은 식품이라고 할 수 없고, 미감과 식감이 있으며 풍미가 우수하여 기호식품으로 바람직하다는 기준에서, 버섯을 이용한 유산발효액을 개발하여, 출원 번호 제 2000-30876호, 제 2001-24513호 및 제 2001-54236호로 출원한 바 있다.

<10> 그런데, 본 출원인이 발명한 상기 출원들에서 사용된 버섯유산발효액의 제조방법은 발효시간이 길어서, 버섯유산발효액의 제조시간이 오래 걸리는 문제점이 있었다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <11> 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해, 발효시간을 단축시키면서도, 발효시간이 긴 종래의 방법과 동일한 발효액을 얻을 수 있는 버섯유산발효액을 제조하기 위한 새로운 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- <12> 본 발명의 또 다른 목적은 버섯유산발효액의 제조시간을 단축시킴으로써, 생산량을 증가시킬 수 있는 버섯유산발효액의 제조방법을 제공한다.
- <13> 또한 본 발명은 상기와 같은 제조방법에 의해 제조된 버섯유산발효액을 제공하는 것을 목적으로 한다.

【발명의 구성 및 작용】

- <14> 본 발명은 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 버섯성분 함유 유산균배지를 준비하는 단계; 상기 배지에 접종할 균주를 가열 처리하는 단계; 상기 유산균 배지조성물에 상기 처리된 균주를 접종하는 단계; 상기 접종된 유산균 균주를 배양하는 단계; 및 상기 배양된 유산균 균주를 숙성하는 단계를 포함하는 버섯유산발효액의 제조방법을 제공한다.
- <15> 본 발명의 버섯성분 함유 유산균 배지를 준비하는 단계는 버섯의 자실체 또는 균사체를 분쇄하여 버섯 분말을 얻는 단계와, 추출용제를 이용하여 고압멸균기에서 버섯추출물을 추출하는 버섯성분준비단계; 준비된 버섯성분 0.1-10중량%, 탈지분유 1-20중량%, 설탕 0.1-20중량%, 및 산당의 성제수를 첨가하여 균질화 하는 버섯성분 함유 유산균배지준비단계; 및 상기 균질화된 버섯성분 함유

유산균 배지를 75-110℃에서 15-40분간 가열 처리하는 단계와 상기 가열처리된 배지를 35-40℃로 냉각하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

<16> 본 발명의 균주를 가열 처리하는 단계는 냉장 보관된 균주를 선별하여 항온기에서 균주의 온도가 25℃ 내지 40℃가 될 때까지 인큐베이션하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

<17> 본 발명의 균주를 접종하는 단계는 상기 냉각된 버섯 함유 유산균 배지에 전체 배지 중량의 1-10%의 가열 처리된 유산균을 접종하는 것을 특징으로 한다.

<18> 본 발명의 접종된 균주의 배양단계는 항온기에서 35-40℃의 온도를 유지하면서 3-6시간 배양하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

<19> 본 발명의 배양된 균주의 숙성단계는 3-5℃에서 일정 시간 동안 숙성하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

<20> 본 발명의 버섯성분 함유 유산균배지를 준비하는 단계에서 사용되는 버섯 성분은 신령버섯, 영지버섯 및 상황버섯의 경우 자실체 및 균사체로부터, 느타리버섯, 양송이버섯, 팽이버섯, 표고버섯 및 동충하초의 경우 자실체로부터 얻는 것을 특징으로 한다.

<21> 또한, 본 발명은 상술한 버섯유산발효액 제조방법에 의해 제조된 버섯유산 발효액을 제공한다.

<22> 본 발명은 식용 및 약용버섯 균사체 또는 자실체로부터 건조분말, 또는 추출물 형태의 버섯성분을 준비하여, 유산균 배지에 상기 준비된 버섯성분을 첨가

하고, 유산균 균주를 가열처리한 후 상기 버섯성분 함유 유산균배지에 상기 처리된 균주를 접종시킨 다음 일정조건하에서 배양, 숙성시켜 버섯유산발효액을 제조하고, 상기 제조된 버섯유산발효액의 특성 및 버섯성분의 첨가에 의한 유산균 생육과 발효작용에 미치는 영향을 조사하는 단계로 설명된다.

<23> 본 발명에서 사용된 식용 및 약용버섯은 신령버섯(*Agaricus blazei*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*), 느타리버섯(*Pleurotus osteratus*), 양송이버섯(*Agaricus bisporus*), 팽이버섯(*Flammulina velutipes*), 잎새버섯(*Grifola frondosa*), 표고버섯(*Lentinus edodes*) 및 동충하초(*Cordyceps spp*)이다. 사용된 버섯의 균사체는 실험실에서 배양한 것이며, 자실체는 시장에서 시판되는 것을 구입하여 사용하였다.

<24> 후술하는 본 발명의 실시예에서는 신령버섯, 영지버섯, 느타리버섯, 양송이버섯, 팽이버섯, 잎새버섯, 표고버섯, 상황버섯 및 동충하초를 사용하여 버섯유산발효액을 제조하였지만, 식용버섯이면 어느 것이든 본 발명의 버섯유산발효액을 제조하기 위해 사용할 수 있다.

<25> 먼저, 도1을 참조하여 본 발명에 따른 버섯유산발효액의 제조방법을 개략적으로 설명하면 다음과 같다.

<26> 1. 버섯성분 함유 유산균 배지의 준비단계

<27> (1) 버섯성분 준비단계

<28> 버섯 분말은 신령버섯, 영지버섯, 잎새버섯 및 상황버섯의 자실체 및 균사체, 느타리버섯, 양송이버섯, 팽이버섯, 표고버섯 및 동충하초의 자실체 중 원하



는 버섯을 선별하여 이물질을 없애고 세척하여 약 60℃에서 열풍 건조시킨 후 이를 분쇄하여 얻어졌다.

<29> 버섯 추출물은 상기 버섯의 자실체 또는 균사체 중에서 원하는 버섯을 선별하여 이물질을 없애고 다양한 온도대에서 순차적으로 추출하여 얻어졌다.

<30> (2) 버섯성분 함유 유산균배지 준비단계

<31> 준비된 버섯성분과 탈지분유(서울우유제물), 설탕, 및 잔량의 정제수를 혼합하여 균질화하는데, 상기 각 성분의 함량은 버섯성분은 전체배지 중량의 0.1-10 중량%, 탈지분유는 전체 배지 중량의 1-20중량%내에서, 설탕은 전체 배지 중량의 0.1-20중량%내에서 선택하고, 선택된 함량에 대해 잔량의 정제수를 더 첨가하여 균질화하였다. 여기서 올리고당, 텍스트린, 비타민, 무기질 등을 비롯한 다른 유용한 성분을 더 첨가할 수 있다.

<32> (3) 버섯성분 함유 유산균배지를 가열살균하고 냉각하는 단계

<33> 균질화된 버섯성분 함유 유산균 배지를 75-85℃의 온도 범위에서 20-40분간 가열 처리한 후, 상기 가열처리된 배지를 35-40℃로 냉각하였다.

<34> 2. 접종할 유산균 균주를 가열 처리하는 단계

<35> 냉장 보관된 유산균 균주를 선별하여 항온기에서 균주의 온도가 25℃ 내지 40℃가 될 때까지 일정시간 인큐베이션하였다.

<36> 3. 가열 처리된 유산균 균주를 접종하는 단계

<37> 살균 냉각 처리된 버섯 함유 유산균 배지에 가열 처리된 유산균 균주를 접종하였다. 이 때 접종되는 유산균 균주의 함량은 전체 배지 중량의 1-10 중량% 범위내에서 선택할 수 있다.

<38> 4. 접종된 유산균 균주를 배양하는 단계

<39> 접종된 균주는 항온기에서 35-40℃의 온도를 유지하면서 3-6시간 배양하였다.

<40> 5. 배양된 균주의 숙성단계

<41> 배양된 균주는 3-5℃에서 일정 시간동안 숙성하였는데, 특히 12시간 정도 숙성하는 것이 바람직하였다.

<42> 이하, 본 발명의 구체적인 기술적 구성을 실시예를 통하여 상세히 설명하지만, 본 발명의 권리범위가 이들 실시 예에만 제한되는 것이 아니라 당업자에 의한 자유로운 변형 또한 본 발명의 권리범위에 속한다할 것이다.

<43> 실시예 1

<44> 신훈버섯유산발효액

<45> 먼저, 신훈버섯의 자실체 및 균사체의 건조분말 또는 추출물을 준비하고, 준비된 버섯 건조분말 또는 버섯추출물 5중량%, 탈지분유 10중량%, 설탕 2중량% 및 정제수 잔량을 혼합하고 균질화 하여 버섯함유 유산균 배지를 준비하였다. 준비된 버섯성분 함유 유산균배지를 100℃에서 20분간 가열살균 처리한 후, 상기 가열 처리된 배지를 37℃로 냉각하였다.

<46>       냉장 보관된 유산균 균주 중 락토바실러스 불가리쿠스를 선별하여 항온기에  
서 균주의 온도가 37℃가 될 때까지 1시간 정도 인큐베이션하였다.

<47>       살균 냉각 처리된 버섯성분 함유 유산균배지에 가열 처리된 락토바실러스  
불가리쿠스를 전체 배지 중량의 3중량%로 접종하여, 균주가 접종된 버섯함유 유  
산균 배지 샘플을 6개 만든 후 항온기에서 37℃의 온도를 유지하면서 상기 샘플  
들을 각각 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 및 6시간 동안 배양시킨 다음,  
각각 다른 시간동안 배양된 샘플들의 pH, 산도를 측정한 후, 충분히 배양 발효된  
샘플만을 선택하여 4℃에서 12시간동안 숙성하였다. 이때 다른 잡균에 오염되지  
않도록 유의하고 배양·숙성이 끝나면 냉각 후 균질기로 균질화시켜 신령버섯유산  
발효액을 제조하였다.

<48>       실시예 2

<49>       영지버섯유산발효액

<50>       실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 영지버섯 자실체 및 균사  
체의 건조분말 또는 주출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로  
영지버섯유산발효액을 제조하였다.

<51>       실시예 3

<52>       노타라버섯유산발효액

<53> 실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 느타리버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로 느타리버섯유산발효액을 제조하였다.

<54> 실시예 4

<55> 양송이버섯유산발효액

<56> 실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 양송이버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로 양송이버섯유산발효액을 제조하였다.

<57> 실시예 5

<58> 팽이버섯유산발효액

<59> 실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 팽이버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로 팽이버섯유산발효액을 제조하였다.

<60> 실시예 6

<61> 앞새버섯유산발효액

·62· 실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 잎새버섯 자실체 및 균사체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로 잎새버섯유산발효액을 제조하였다.

·63· 실시예 7

·64· 표고버섯유산발효액

·65· 실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 표고버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로 표고버섯유산발효액을 제조하였다.

·66· 실시예 8

·67· 상황버섯유산발효액

·68· 실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 상황버섯 자실체 및 균사체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로 상황버섯유산발효액을 제조하였다.

·69· 실시예 9

·70· 동충하초유산발효액

<71> 실시예1과 동일한 방법을 이용하여 신령버섯대신 동충하초 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 실시예2와 동일한 조건으로 영지버섯유산발효액을 제조하였다.

<72> 비교예 1

<73> 종래 방법으로 제조된 신령버섯유산발효액

<74> 신령버섯의 자실체 및 균사체의 건조분말 또는 추출물을 준비하고, 준비된 버섯 건조분말 또는 버섯추출물 5중량%, 탈지분유 10중량%, 설탕 2중량% 및 경계수 10중량을 혼합하고 균질화 하여 버섯함유 유산균 배지를 준비하였다. 준비된 버섯성분 함유 유산균배지를 100℃에서 20분간 가열살균 처리한 후, 상기 가열 처리된 배지를 37℃로 냉각하였다.

<75> 살균 냉각 처리된 버섯성분 함유 유산균배지에 냉장 보관된 락토바실러스 불가리쿠스를 전제 배지 중량의 3중량%로 접종하여, 균주가 접종된 버섯성분 함유 유산균배지 샘플을 6개 준비한 후, 항온기에서 37℃의 온도를 유지하면서 상기 샘플들을 각각 3시간, 6시간, 9시간, 12시간, 15시간, 및 18시간 동안 배양시킨 다음, 각각 다른 시간동안 배양된 샘플들의 pH, 산도를 측정한 후, 충분히 배양 발효된 샘플만을 선택하여 4℃에서 12시간동안 숙성하였다. 이때 다른 잡균에 오염되지 않도록 유의하고 배양·숙성이 끝나면 냉각 후 균질기로 균질화시켜 신령버섯유산발효액을 제조하였다.

<76> 비교예 2

<77> 종래 방법으로 제조된 영지버섯유산발효액

<78> 신령버섯대신 영지버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 영지버섯유산발효액을 제조하였다.

<79> 비교예 3

<80> 종래 방법으로 제조된 느타리버섯유산발효액

<81> 신령버섯대신 느타리버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 느타리버섯유산발효액을 제조하였다.

<82> 비교예 4

<83> 종래 방법으로 제조된 양송이버섯유산발효액

<84> 신령버섯대신 양송이버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 양송이버섯유산발효액을 제조하였다.

<85> 비교예 5

<86> 종래 방법으로 제조된 팽이버섯유산발효액

<87> 신령버섯대신 팽이버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 팽이버섯유산발효액을 제조하였다.

<88> 비교예 6

<89> 종래 방법으로 제조된 앞새버섯유산발효액

<90> 신령버섯대신 앞새버섯 자실체 및 균사체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 앞새버섯유산발효액을 제조하였다.

<91> 비교예 7

<92> 종래 방법으로 제조된 표고버섯유산발효액

<93> 신령버섯대신 표고버섯 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 표고버섯유산발효액을 제조하였다.

<94> 비교예 8

<95> 종래 방법으로 제조된 상황버섯유산발효액

<96> 신령버섯대신 상황버섯 자실체 및 균사체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 상황버섯유산발효액을 제조하였다.

<97> 비교예 9

<98> 종래 방법으로 제조된 동충하초유산발효액

<99> 신령버섯대신 동충하초 자실체의 건조분말 또는 추출물을 사용한 것을 제외하면, 비교예1과 동일한 방법을 이용하여 동충하초유산발효액을 제조하였다.

<100> 실험예



<101> 본 발명에 따른 버섯유산발효액의 제조방법에 따라 실시예 1 내지 9에서 제조된 버섯유산발효액의 배양시간에 따른 pH 및 산도와 종래의 제조방법에 따라 비교예 1 내지 9에서 제조된 버섯유산발효액의 배양시간에 따른 pH 및 산도를 비교하기 위해, 상기 실시예 2 내지 10 및 비교예 1 내지 9에서 각각 다른 시간 동안 배양된 샘플들을 교반기로 1000 rpm에서 30초간 균질화시킨 후 pH, 산도 및 유동학(rheology ; 경도, breaking energy, 탄성분자)을 측정하였다. pH 측정은 pH meter로 하였으며 산도(acidity)는 제조하여 숙성된 버섯요구르트 10 mL을 분취하여 3차 멸균증류수로 1:1 희석하여 0.1% 페놀프탈레인 용액을 가하고 0.1N NaOH로 적정하였다.

<102> 실험결과 : 하기의 표1 및 표2에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 제조방법을 사용한 실시예 2 내지 10의 경우, 3시간동안 배양한 샘플에서 얻어진 pH 및 산도가 비교예 1 내지 9의 경우에는 9시간동안 배양한 샘플에서 얻어지고 있어, 본 발명에 따른 제조방법을 사용하면 종래의 버섯유산발효액 제조방법보다 약 3배정도 생산시간이 단축되는 것을 알 수 있다.

&lt;103&gt; 【표 1】

실시에에 따라 제조된 버섯유산발효액의 배양시간에 따른 pH/산도 측정

		pH/산도						
		0	1	2	3	4	5	6
실시예1	분말	6.6/0.15	6.3/0.23	6.1/0.27	5.8/0.36	5.1/0.56	4.8/0.66	4.6/0.74
	주출물	6.6/0.15	6.2/0.25	6.1/0.27	5.7/0.39	5.2/0.52	4.8/0.65	4.6/0.71
실시예2	분말	6.6/0.15	6.4/0.21	6.2/0.25	5.8/0.34	5.0/0.58	4.7/0.70	4.6/0.71
	주출물	6.6/0.15	6.4/0.20	6.2/0.24	5.9/0.33	5.1/0.55	4.7/0.68	4.6/0.72
실시예3	분말	6.6/0.15	6.3/0.23	6.1/0.26	5.8/0.35	5.0/0.57	4.7/0.67	4.7/0.70
	주출물	6.6/0.15	6.4/0.21	6.2/0.24	5.9/0.31	5.2/0.52	4.8/0.65	4.6/0.74
실시예4	분말	6.6/0.15	6.4/0.19	6.2/0.25	6.0/0.30	5.3/0.50	4.9/0.61	4.7/0.70
	주출물	6.6/0.15	6.5/0.17	6.2/0.25	6.0/0.29	5.4/0.47	4.9/0.61	4.7/0.69
실시예5	분말	6.6/0.15	6.5/0.18	6.2/0.25	5.9/0.31	5.3/0.49	5.0/0.59	4.7/0.70
	주출물	6.6/0.15	6.5/0.17	6.2/0.24	5.9/0.31	5.4/0.46	5.0/0.57	4.7/0.68
실시예6	분말	6.6/0.14	6.2/0.24	6.0/0.30	5.8/0.36	5.3/0.50	5.0/0.59	4.7/0.68
	주출물	6.5/0.15	6.1/0.26	5.9/0.32	5.8/0.34	5.3/0.49	5.0/0.57	4.5/0.79
실시예7	분말	6.6/0.15	6.4/0.19	6.1/0.27	5.7/0.39	5.2/0.52	4.8/0.64	4.5/0.76
	주출물	6.6/0.15	6.5/0.17	6.3/0.23	5.9/0.33	5.3/0.50	4.9/0.60	4.6/0.73
실시예8	분말	6.5/0.14	6.4/0.21	6.2/0.25	5.9/0.33	5.6/0.41	5.1/0.56	4.8/0.66
	주출물	6.6/0.15	6.5/0.18	6.2/0.25	6.0/0.30	5.3/0.50	4.9/0.62	4.7/0.69
실시예9	분말	6.5/0.16	6.2/0.25	5.9/0.32	5.7/0.38	5.3/0.49	5.0/0.59	4.6/0.74
	주출물	6.6/0.16	6.3/0.22	5.9/0.33	5.6/0.40	5.2/0.52	4.9/0.60	4.5/0.75

## &lt;104&gt; 【표 2】

비교예에 따라 제조된 비식유산발효액의 배양시간에 따른 pH/산도 측정

		pH/산도						
		0	3	6	9	12	15	18
비교예1	분말	6.6/0.15	6.2/0.25	5.8/0.36	5.6/0.41	5.1/0.59	4.6/0.74	4.3/0.84
	주출물	6.6/0.15	6.2/0.24	5.7/0.38	5.5/0.44	4.9/0.61	4.6/0.73	4.2/0.87
비교예2	분말	6.6/0.15	6.1/0.28	5.7/0.39	5.5/0.43	4.9/0.62	4.6/0.74	4.4/0.83
	주출물	6.6/0.15	6.1/0.27	5.8/0.35	5.4/0.47	4.8/0.66	4.5/0.79	4.3/0.85
비교예3	분말	6.6/0.15	6.0/0.30	5.7/0.39	5.4/0.47	4.9/0.62	4.7/0.70	4.5/0.80
	주출물	6.6/0.15	6.2/0.30	5.8/0.36	5.5/0.43	4.9/0.61	4.6/0.72	4.4/0.83
비교예4	분말	6.6/0.15	6.2/0.25	5.7/0.38	5.4/0.46	4.9/0.60	4.6/0.73	4.3/0.86
	주출물	6.6/0.15	6.1/0.27	5.7/0.38	5.4/0.46	4.8/0.66	4.6/0.72	4.4/0.83
비교예5	분말	6.6/0.15	6.2/0.24	5.7/0.39	5.4/0.47	4.9/0.62	4.6/0.74	4.4/0.83
	주출물	6.6/0.15	6.2/0.24	5.8/0.39	5.5/0.44	4.9/0.62	4.7/0.70	4.5/0.80
비교예6	분말	6.6/0.14	6.0/0.29	5.7/0.39	5.3/0.50	4.7/0.70	4.5/0.80	4.2/0.89
	주출물	6.6/0.15	6.2/0.25	5.9/0.33	5.5/0.44	4.8/0.66	4.6/0.74	4.3/0.86
비교예7	분말	6.6/0.15	6.0/0.30	5.7/0.38	5.3/0.49	4.8/0.65	4.6/0.74	4.4/0.82
	주출물	6.6/0.15	6.1/0.28	5.8/0.35	5.4/0.45	4.8/0.65	4.6/0.73	4.4/0.81
비교예8	분말	6.6/0.15	6.3/0.23	5.8/0.35	5.5/0.44	4.9/0.62	4.6/0.74	4.4/0.82
	주출물	6.6/0.15	6.2/0.25	5.9/0.32	5.6/0.40	4.9/0.62	4.6/0.72	4.5/0.79
비교예9	분말	6.6/0.15	6.2/0.24	5.9/0.31	5.7/0.44	4.8/0.66	4.6/0.73	4.4/0.83
	주출물	6.6/0.15	6.2/0.25	5.9/0.33	5.6/0.41	4.8/0.65	4.7/0.70	4.4/0.81

<105>      도 2는 실시예 1의 방법을 이용하여 영지버섯 자실체 건조분말 0.1 중량%와 주출물 5.0 중량%(W/W)를 각각 함유하고 있는 유산균 배지에 락토바실러스 분가

리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*)를 접종하여 제조된 버섯유산발효액의 유산 생성율을 나타낸 그래프로서, 버섯의 분말 또는 추출물 어느 것도 첨가하지 않은 것은 Control이고, 분말을 첨가한 것이 0.10%배지이며, 액기스를 첨가한 것이 5.00%배지이다. 또한 도 3a ~ 3c는 유동학(rheology)에 대한 영지버섯 건조분말과 추출물의 농도별 점도, 브레이킹 에너지(breaking energy) 및 탄성분자의 효과를 나타낸 그래프이다.

<106> 도 2 및 도 3a ~ 3c로부터 버섯 성분이 0.1% 이상 함유되는 경우 유효한 유산 생성율이 보장되는 것을 알 수 있으며, 부드럽고 좋은 조직과 우수한 성상을 얻을 수 있는 점도를 얻을 수 있는 것을 알 수 있다.

#### 【발명의 효과】

<107> 본 발명에 따른 버섯유산발효액의 제조방법은 유산 생성율이 높아 배양시간을 단축시키면서도, 배양시간이 긴 종래의 방법에서 얻어지는 발효액과 동일하거나 보다 우수한 성상을 가지는 버섯유산발효액을 제조할 수 있는 이점이 있다.

<108> 또, 본 발명은 버섯유산발효액의 제조시간을 종래 방법보다 3배 이상 단축시킬 수 있으므로, 생산효율을 높일 수 있는 점에서 제조비용을 감소시키는 효과가 있다.

<109> 또한 본 발명의 제조방법에 의해 부드럽고 좋은 조직과 점도를 가진 우수한 품질의 버섯유산발효액을 제조할 수 있는 효과가 있다.

<110> 또한 본 발명에 따른 제조방법에 따라 제조된 버섯유산발효액은 버섯이 가지는 항종양활성, 항산화작용, 콜레스테롤 저하작용, 혈압강화작용, 항혈전작용 등이 유산발효에 의해 상승하기 때문에 건강의 유지에 유익할 뿐만 아니라 영양적 가치도 높고 칼로리가 낮아 체중감소의 효과 및 장활성이 우수한 효과가 있다.

## 【특허 청구범위】

## 【청구항 1】

버섯성분 함유 유산균 배지를 준비하는 단계;

상기 배지에 접종할 균주를 가열 처리하는 단계;

상기 유산균배지조성분에 상기 처리된 균주를 접종하는 단계;

상기 접종된 유산균 균주를 배양하는 단계; 및

상기 배양된 유산균 균주를 숙성하는 단계를 포함하는 버섯유산발효액의 제조방법.

## 【청구항 2】

제 1항에 있어서, 상기 버섯성분 함유 유산균 배지를 준비하는 단계는 버섯의 자실체 또는 균사체를 분쇄하여 버섯 분말을 얻는 단계와, 추출용제를 이용하여 고압멸균기에서 버섯추출물을 추출하는 버섯성분준비단계; 준비된 버섯성분 0.1-10 중량%, 탈지분유 1-20중량%, 설탕 0.1-20중량%, 및 잔량의 정제수를 첨가하여 균질화 하는 버섯성분 함유 유산균배지준비단계; 및 상기 균질화된 버섯성분 함유 유산균 배지를 75-110℃에서 15-40분간 가열 처리하는 단계와 상기 가열 처리된 배지를 35-40℃로 냉각하는 단계를 포함하는 버섯유산발효액의 제조방법.

## 【청구항 3】

제 1항에 있어서, 상기 균주를 가열 처리하는 단계는 냉장 보관된 균주를 선별하여 항온기에서 균주의 온도가 25℃ 내지 40℃가 될 때까지 인큐베이션하는 단계를 포함하는 버섯유산발효액의 제조방법.

**【청구항 4】**

제 1항에 있어서, 상기 균주를 접종하는 단계는 상기 냉각된 버섯 함유 유산균 배지에 전체 배지 중량의 1-10%의 가열 처리된 유산균을 접종하는 것을 포함하는 버섯유산발효액의 제조방법.

**【청구항 5】**

제 1항에 있어서, 상기 접종된 균주의 배양단계는 항온기에서 35-40℃의 온도를 유지하면서 3-6시간 배양하는 단계를 포함하는 버섯유산발효액의 제조방법.

**【청구항 6】**

제 1항에 있어서, 상기 배양된 균주의 숙성단계는 3-5℃에서 일정 시간동안 숙성하는 단계를 포함하는 버섯 유산발효액의 제조방법.

**【청구항 7】**

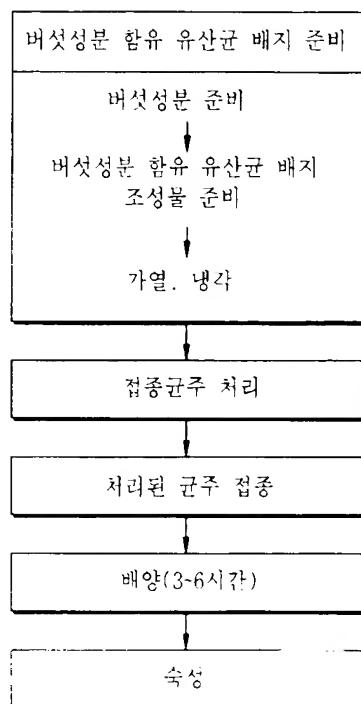
제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 버섯성분 함유 유산균 배지를 준비하는 단계에서 사용되는 버섯 성분은 신령버섯, 영지버섯 및 상황버섯의 경우 자실체 및 균사체로부터, 느타리버섯, 양송이버섯, 팽이버섯, 표고버섯 및 동충하초의 경우 자실체로부터 얻는 것을 특징으로 하는 버섯유산발효액의 제조방법.

**【청구항 8】**

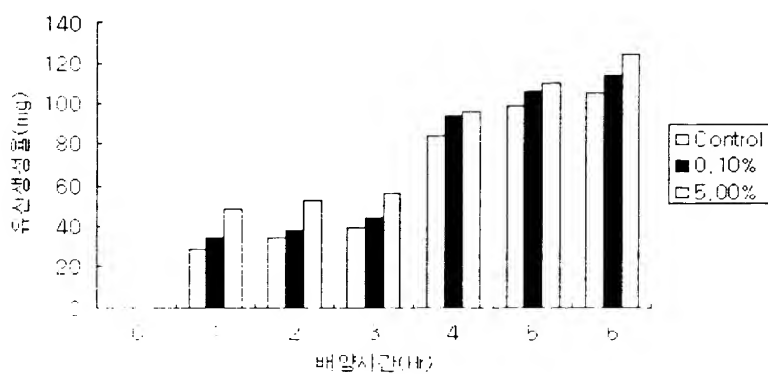
제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해 제조된 버섯유산발효액.

## 【도면】

【도 1】

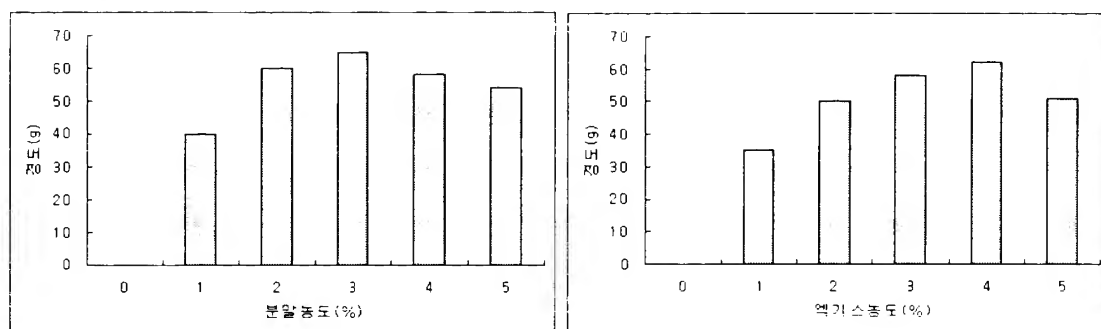


【도 2】

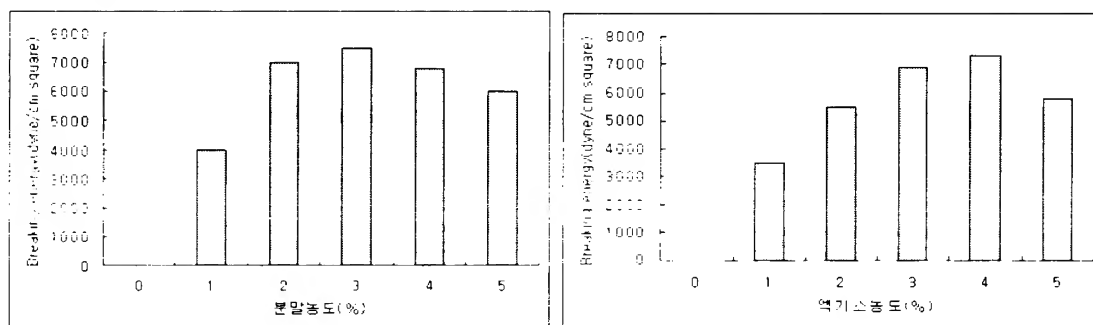




【도 3a】



【도 3b】



【도 3c】

